ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE MICROBIOLOGIE

TOME III *N° 2* *JUIN 1930*

MÉMOIRES ORIGINAUX

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES TUMEURS BACTÉRIENNES CHEZ LES ALGUES MARINES

par

M. A. CANTACUZÈNE

CHAPITRE I

INTRODUCTION

L'étude des végétaux terrestres a contribué, bien plus que celle des algues, à accroître nos connaissances en phytopathologie. En ce qui concerne les tumeurs d'origine bactérienne, les Phanérogames offrent de nombreux exemples qui sont actuellement bien étudiés, tant au point de vue de la structure et de l'organogénèse, que des caractéristiques de l'agent bactérien causal. Il suffit de rappeler les travaux très nombreux qui, à la suite de Prillieux, Vuillemin, Sevastano, von Tubeuf, E. Smith, ont précisé nos connaissances sur les tumeurs bactériennes de l'olivier, des résineux, sur le crown-gall enfin, dû au Bacterium tumefaciens.

Comparativement à ces nombreux et importants travaux, les tumeurs bactériennes des algues n'ont suscité qu'un nombre bien restreint de recherches. De plus, les auteurs qui se sont intéressés à cette question n'ont pas poussé l'analyse des faits aussi loin que dans le cas des Phanérogames. Il y a cependant assez longtemps qu'on a signalé l'existence de tumeurs bactériennes chez des algues marines. Dès 1892, Schmitz rapporte la présence de tumeurs chez des algues rouges diverses. Ces algues, provenant de diverses régions du globe, avaient pour caractère commun de porter des tumeurs contenant des bactéries ; ces bactéries étaient localisées dans les membranes intercellulaires. L'auteur décrit très sommairement les caractères anatomiques de ces tumeurs. Il note l'existence de bactéries, sans les définir par des caractères très précis, et il est difficile d'affirmer l'identité de ces tumeurs et de celles qui ont été décrites plus tard par Chemin et par nous-même. Il ne nous paraît cependant pas douteux, à lire les descriptions de Schmitz, qu'elles n'offrent une grande parenté avec les tumeurs que nous avons pu observer.

Le mode d'évolution de la tumeur, le rôle certain de la bactérie comme agent causal de la néoplasie, ne sont pas indiqués dans le travail de Schmitz.

Comme nous l'avons dit, toutes les espèces qu'il a pu étudier appartenaient au groupe des algues rouges ; il a observé ces formations dans les genres suivants : Chondrus crispus, Cystoclonium purpurascens, Delesseria sanguinea, recueillie à Helgoland. Il note encore l'existence de tumeurs analogues sur Gigartina, Gratteloupia, et deux espèces recueillies sur les côtes américaines : Prionites decipiens (Pérou) et Prionites lanceolatus, recueillies sur les côtes de Californie.

Récemment, le professeur Chemin signalait l'existence de tumeurs bactériennes chez Cystoclonium purpurascens. Ces algues avaient été recueillies sur les côtes nord de la Bretagne, près de la Station biologique de Roscoff. Il s'agit de tumeurs atteignant 4 à 5 millimètres, d'abord lisses, puis présentant un aspect en chou-fleur quand elles sont plus âgées. La bactérie, ovoïde, de 1 μ de longueur environ, se développe dans la membrane qu'elle désagrège. La nécrose tardive du protoplasme cellulaire entraîne, dans la galle, la formation d'une cavité.

La prolifération de la tumeur se ferait, d'après cet auteur, au niveau du tissu non infecté qui est situé en dehors de cette zone nécrotique.

D'autres tumeurs ont été signalées sur des Caulerpa observés

en Méditerranée et semblent présenter des caractères voisins.

De ces recherches, peu nombreuses en vérité, il ressort que les tumeurs bactériennes semblent exister chez un grand nombre d'espèces diverses et répandues en divers points du globe. Il est vraisemblable que le nombre des espèces infestées et la fréquence de ces infections est de beaucoup supérieure à ce qu'ont montré les recherches actuelles; peut-être en trouve-t-on aussi fréquemment que chez les végétaux terrestres, les difficultés d'observation et d'expérimentation seules rendent leur connaissance plus malaisée.

L'étude de ces bactéries n'a pas encore été faite. Nous ignorons s'il existe un lien étroit dans l'étiologie de ces diverses tumeurs et si l'on est en présence d'une ou de plusieurs espèces bactériennes. Enfin nous ignorons également s'il y a une parenté entre ces bactéries et celles qui provoquent la formation de tumeurs chez les Phanérogames.

Nous avons tenté, dans ce travail, d'analyser les diverses étapes de l'évolution des tumeurs chez les algues et de prouver, en les reproduisant expérimentalement, que la bactérie trouvée dans des tissus de l'hôte est bien l'agent causal de ce processus néoplasique.

CHAPITRE II

TECHNIQUE

Les recherches que nous avons poursuivies sur les tumeurs des algues comprennent une étude anatomique et un examen histologique de leurs tissus ; selon le but que nous avions à atteindre, nous avons employé des techniques différentes.

La méthode des coupes, après inclusion à la paraffine, s'est montrée impropre le plus souvent pour l'étude de la structure de la tumeur. Il est impossible de saisir par ce moyen la forme et les dimensions de la plupart des cellules : celles-ci atteignent, en effet, dans de nombreux cas, plusieurs centaines de μ selon leur grand diamètre, et leur forme est alors très allongée ; il en résulte qu'une coupe mince, même si elle est bien orientée, a peu de chances de montrer la forme véritable de la cellule. De plus, elle ne permet pas d'apprécier le volume du protoplasma cellulaire, ni de dénombrer les noyaux qu'il contient.

Il est malaisé d'étudier par le moyen des coupes les rapports des cellules entre elles; celles-ci sont en général intriquées et très contournées, de sorte que l'interprétation de la structure des tumeurs sur une coupe est impossible.

C'est à d'autres méthodes que nous avons eu recours pour pouvoir comprendre la structure anatomique des tumeurs.

Deux procédés ont été utilisés de préférence :

En premier lieu, les dissociations nous ont rendu de grands services pour l'étude de la forme des cellules et de celle des membranes. Nous soumettions alors les tissus à l'action d'une lessive alcaline en chauffant jusqu'à ébullition : celle-ci produit le gonflement des membranes, qui rend alors possible la dissociation des cellules. Le même résultat est encore obtenu par action de l'hypochlorite de soude, à condition de ne pas prolonger cette action trop longtemps. On parvient ainsi, en isolant les cellules de la tumeur, à apprécier leur forme et leurs dimensions.

Pour étudier le volume du protoplasma cellulaire, le nombre de ses noyaux et le rapport des cellules entre elles, nous pratiquions des coupes très épaisses dans les tissus, soit à main levée, soit à l'aide du microtome à congélation. Ces coupes, épaisses de 40 à 100 μ, permettaient d'apercevoir à la fois plusieurs assises de cellules et d'analyser leur mode d'union.

Nous montions les coupes obtenues dans un milieu éclaircissant, glycérine ou lactophénol de préférence. Certaines coupes fixées au formol ou au Bouin étaient ensuite colorées à l'hémalun et montées au baume.

Nous avons ainsi examiné en premier lieu des thalles normaux, et en particulier de jeunes plantules longues seulement de 4 ou 5 centimètres, qui permettent d'observer facilement la disposition des éléments cellulaires. Nous avons étudié ensuite la structure des tumeurs en la comparant à celle des plantes normales.

Etude histologique. — Pour cette étude, nous avons utilisé le plus souvent le mélange fixateur de Bouin et surtout de Bouin-Hollande, puis inclus à la paraffine et débité en coupes d'épaisseur variable. Ces mélanges nous ont donné d'assez bons résultats: ils ont l'avantage d'être pénétrants et cette propriété est indispensable pour l'étude de notre matériel, les tissus des algues, et en particulier ceux des tumeurs, étant difficilement pénétrables par les mélanges fixateurs. La présence de membranes épaisses est vraisemblablement le principal obstacle à leur diffusion rapide. En outre, l'existence de quantités d'eau considérables

détermine des altérations du cytoplasme par suite du déséquilibre osmotique intense qui se produit au moment de la fixation. Il en résulte des modifications d'aspect du cytoplasme limitant les grandes vacuoles de la cellule : les figures de plasmolyse et de rétraction cytoplasmique y sont fréquentes.

Enfin, pour l'examen du noyau, nous avons utilisé le fixateur de Bataillon, qui nous a donné de bons résultats.

Colorations. — C'est l'hématoxyline ferrique que nous avons employée de préférence : elle met simultanément en évidence les éléments figurés du cytoplasme, le noyau et les bactéries. Ces dernières siègent dans les membranes, qui restent incolores et sont mises en évidence avec une remarquable précision par la laque d'hématoxyline.

Nous avons encore utilisé des colorations combinées telles que la safranine-vert lumière, ou le vert de méthyle-pyronine.

Etude cytologique. — Les difficultés de la fixation ont été particulièrement grandes quand il s'est agi d'obtenir des préparations qui mettent en évidence les divers constituants figurés du cytoplasme : l'irrégularité des résultats obtenus est extrême, même si les pièces sont traitées simultanément par le même fixateur.

Après de nombreux essais, nous avons utilisé les mélanges fixateurs suivants :

1° Mélange de Regaud. Les pièces, fixées trois jours, étaient postchromées vingt-quatre à quarante-huit heures dans du bichromate de potasse à saturation dans l'étuve à 37°, selon la technique de M. Parat.

2° Mélange fixateur de Dietrich, modifié par M. Parat.

Colorations. — Les pièces fixées par les mélanges précédents étaient colorées par la méthode d'Altmann telle qu'elle a été modifiée par M. Volkonski. La rubine *S* colorant les mitochondries, les plastes et le nucléole, le colorant bleu basique met en évidence, en bleu très pâle, les membranes intercellulaires, et les bactéries en bleu foncé. La chromatine du noyau se colore de même.

Nous avons également utilisé, pour la coloration de ces coupes, l'hématoxyline de Regaud, qui nous a donné d'excellents résultats.

Mise en évidence des précipités phénoliques. — Les composés phénoliques sont extrêmement abondants dans les cellules de la

tumeur. Nous les avons examinés sur des préparations fraîches ou après fixation dans les mélanges contenant du bichromate de potasse. Les liquides fixateurs de Regaud ou de Dietrich-Parat employés dans ce cas et suivis d'une postchromisation, colorent les composés phénoliques en jaune plus ou moins intense. On les distingue alors facilement des autres constituants cellulaires après coloration des coupes par la rubine ou par l'hématoxyline de Regaud. Nous avons contrôlé la nature phénolique de ces composés et leur localisation par la réaction à la vanilline chlorhydrique, qui nous a toujours donné des résultats extrêmement nets. Ainsi nous avons pu confirmer les observations faites sur les pièces soumises à la postchromisation.

CHAPITRE III

ETUDE MACROSCOPIQUE DES TUMEURS

Le matériel qui nous a permis d'établir ce travail a été recueilli, au cours de ces dernières années, sur la côte nord du Finistère, aux environs de la Station biologique de Roscoff.

Nous y avons examiné un grand nombre d'espèces d'algues aux diverses saisons de l'année, et, sur plusieurs espèces appartenant à des groupes éloignés, nous avons constaté la présence des tumeurs dont l'étude fait l'objet de ce travail.

Nous nous sommes efforcé de préciser l'évolution de ces formations anormales, leur fréquence et leur répartition topographique.

C'est ainsi que nous avons été amené à étudier spécialement une Phéophycée, la Saccorhiza bulbosa. De la Pyl., et une espèce appartenant au groupe des algues rouges, le Chondrus crispus. Des recherches antérieures, dues à M. le professeur Chemin, avaient fait connaître un exemple analogue chez une Rhodophycée, le Cystoclonium purpurascens. Nous étudierons d'abord la première de ces deux espèces.

Les renseignements tirés de l'observation du Saccorhiza bulbosa, tant au point de vue anatomique et histologique qu'au point de vue de l'organogénèse et des conditions écologiques dans lesquelles s'observent les individus pathologiques, ont été plus nombreux et plus précis que pour le Chondrus crispus.

La recherche des individus anormaux est d'ailleurs facilitée

par l'abondance de cette algue, et la très grande taille qu'atteint cette espèce est un avantage appréciable pour l'étude macroscopique.

A l'encontre des autres espèces de Laminaires qui sont vivaces. le Saccorhiza bulbosa a un cycle de végétation annuel, de sorte qu'il est possible, en quelques mois, de suivre avec précision les stades successifs de la formation de la tumeur et de fixer les rapports existant entre l'évolution de la néoplasie et le développement propre de la plante.

CARACTÈRES DE L'ALGUE NORMALE. ÉVOLUTION DANS LA RÉGION DE ROSCOFF

La Saccorhiza bulbosa est d'une extrême abondance dans la région de Roscoff. Tout le long de la côte, dans les zones présentant un facies rocheux, elle s'étend par champs immenses, surtout dans les endroits fortement battus par les vagues.

Il est donc possible d'en examiner un grand nombre quand ces algues découvrent à marée basse dans les époques de vive eau. Comme elles ne peuvent se développer à un étage plus élevé que la limite inférieure des basses eaux, il y a deux époques favorables pour les examiner au cours de l'année : celle qui est voisine de l'équinoxe de l'automne et qui correspond à la fin du cycle de végétation, et celle de l'équinoxe de printemps, qui est le moment du maximum d'accroissement de l'algue.

Cycle de croissance. — Nous avons dit plus haut que l'algue présente un cycle de végétation annuel. Dans la région de Roscoff, le début du cycle ne se produit pas à une même époque pour tous les individus et il est possible de trouver des algues jeunes à toutes les époques de l'année, comme l'a observé le professeur Sauvageau. Toutefois, il nous semble que, pour la majorité des individus, le début de la période de végétation a lieu entre la fin de l'automne et l'équinoxe de printemps.

Durant les trois ou quatre premiers mois de la vie de l'algue, la croissance est extrêmement rapide et le thalle atteint sa longueur maxima ; plus tard, et par suite de l'usure continuelle que subit l'extrémité des lanières, la plante ne s'accroît plus guère en longueur, quoique la croissance continue ; sa longueur totale se raccourcit même sensiblement à mesure qu'elle vieillit, mais le stipe s'allonge encore, les différentes portions du thalle s'épais-

sissent et deviennent plus rigides. Vers la fin de l'automne, la plupart des Saccorhiza bulbosa de l'année précédente disparaissent : les unes sont arrachées en bloc ; les autres se brisent et les bulbes subsistent encore plusieurs mois avec les restes du stipe.

A ce moment, de jeunes thalles apparaissent déjà, et poursuivent leur croissance jusqu'à l'été. Toutefois, au mois de mars et d'avril, les thalles sont de taille variable, mais tous en pleine période de croissance.

C'est également au printemps que l'on trouve le plus grand nombre d'individus porteurs de tumeurs, à tous les stades de leur dévelopement ; c'est le moment le plus favorable pour suivre l'évolution de ces dernières.

CARACTÈRES DES THALLES PATHOLOGIQUES

Certains Saccorhiza bulbosa attirent l'attention par la présence de petites élevures disséminées à la surface du thalle. Leurs dimensions, leur nombre, leur localisation varient d'un pied à l'autre, mais on les aperçoit facilement grâce à leur coloration : celle-ci est d'un jaune pâle et fait contraste avec le fond brun du thalle sain. Ces formations pathologiques ne sont pas localisées à une partie définie du thalle : on les trouve aussi bien sur le bulbe, le stipe, ou la lame, sans que leurs caractères diffèrent essentiellement. Mais sur un même pied, ces nodosités sont presque toujours de dimensions variables ; et il est possible de suivre, sur un seul individu, tous les stades qu'elles parcourent au cours de leur évolution.

Tumeurs jeunes. — C'est à peine si l'on peut apercevoir à l'œil nu les stades jeunes de ces tumeurs. Elles se présentent alors comme de légères élevures hémisphériques d'un jaune clair et font saillie sur l'une des faces du thalle. L'autre face reste le plus souvent absolument plane, au moins à ce stade initial.

La surface du nodule est absolument lisse et unie, en tout semblable avec la surface normale du thalle auquel il se rapporte. Si la tumeur siège sur une des lanières de la lame, il est facile de l'examiner par transparence : elle apparaît alors comme une petite tache opaque, ovalaire, et il n'est pas rare d'observer dans son voisinage immédiat d'autres masses opaques analogues, plus petites encore, mais dont nulle saillie ne révèle l'existence à la surface du thalle.

Stades plus évolués. — A mesure que la tumeur évolue, ses dimensions augmentent et sa forme change progressivement. La

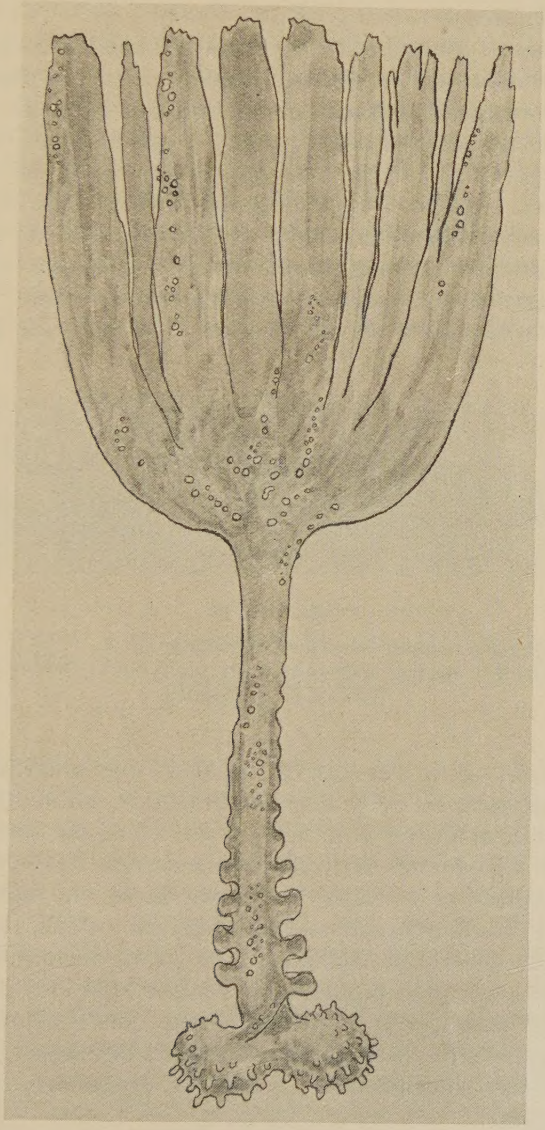


Fig. 1. — *Sacchoriza bulbosa adulte* présentant de nombreuses tumeurs disséminées sur tout le thalle.
(Réduit au 1/10e.)

saillie siégeant sur l'une des faces du thalle s'accuse. Tous les diamètres de la tumeur augmentent, mais d'une façon inégale, et l'allongement prédomine selon l'axe qui est perpendiculaire à la surface du thalle.

Aux premières phases de cette transformation, la base circulaire de la tumeur est largement implantée sur le tissu normal. Ultérieurement, l'allongement se poursuivant selon l'axe perpendiculaire, la base de la tumeur tend à se pédiculiser, tandis que la partie supérieure se renfle. Cette dernière acquiert bientôt un diamètre très supérieur à celui de la portion basale. Ces deux caractères, rétrécissement relatif et allongement de la portion basilaire d'une part, épanouissement de l'extrémité opposée de l'autre, s'accentuent à mesure que la tumeur s'accroît.

En plus du changement qui s'opère dans la forme générale et

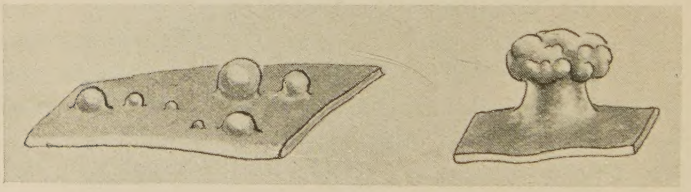


FIG. 2 ET 3.

A gauche : stades jeunes de la tumeur.
A droite : tumeur parvenue à son plein épanouissement.
(Grandeur naturelle.)

les dimensions de la tumeur, il apparaît une modification dans l'aspect de la surface. Cette dernière était lisse au stade précédent. Cet aspect uni disparaît pour faire place à une surface irrégulière et bosselée. La portion terminale se recouvre de petites proliférations nodulaires, de tailles assez variables, de sorte que l'ensemble de la tumeur prend un aspect de chou-fleur. La coloration de la tumeur se modifie également : la partie terminale, bosselée, de la tumeur, garde la pigmentation jaune clair des jeunes nodosités. La portion basilaire présente, par contre, soit une teinte brune, assez voisine de la couleur normale de l'algue, soit ocre, et cette dernière coloration se voit très fréquemment chez les tumeurs âgées.

Nous avons signalé, au début de cette description, que le nodule se développe sur une des faces du thalle. Si l'on examine l'autre face au point qui correspond à l'insertion de la tumeur, on cons-

tate qu'en règle générale elle reste plane aux premières phases du développement. Si le stade examiné est plus avancé, on voit le caractère de cette région se modifier (voir la figure 4). Une dépression apparaît, sorte de cupule qui correspond exactement à la base de la tumeur développée du côté opposé. A mesure que la tumeur augmente de volume, cette dépression s'approfondit, s'élargit et présente l'aspect d'un cône dont le sommet est dirigé vers l'autre face du thalle. On voit très fréquemment, dans cette concavité, une ou plusieurs ulcérations ovalaires dues à l'action d'une petite patelle, l'Helcion pellucidum, qui vit en abondance sur les Saccorhiza bulbosa. L'animal lui-même s'y trouve fréquemment logé, et la dépression est parfois assez grande pour contenir plusieurs de ces mollusques. Souvent l'érosion est assez profonde pour entamer le tissu même de la tumeur. Nous revien-

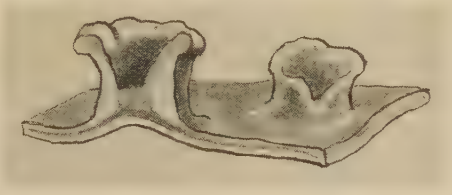


FIG. 4. — *Tumeurs âgées ulcérées.*
L'une des tumeurs a été sectionnée. On voit que le centre est presque entièrement détruit.
(Grandeur naturelle.)

drons d'ailleurs ultérieurement sur le rôle que ces mollusques peuvent avoir dans la pathologie du Saccorhiza bulbosa.

Parvenue au stade que nous venons de décrire, la tumeur n'évolue plus que lentement. Autant que nous avons pu l'apprécier, il faut une moyenne de trois ou quatre mois pour que la tumeur atteigne son plein développement. Elle atteint souvent, à ce moment, un diamètre de 2 centimètres et davantage, et cette taille se rencontre fréquemment aux mois d'avril ou mai. Or, la plante continue sa croissance jusqu'à l'automne; la croissance de la tumeur, qui lui est sensiblement parallèle, ne s'arrête pas, dans la majorité des cas, mais, en même temps que la prolifération se poursuit, des altérations se manifestent. Si l'on examine des tumeurs sur des Saccorhiza bulbosa recueillis en été ou en automne, on observe diverses sortes d'altérations. A côté de quelques tumeurs jeunes, on en voit un nombre beaucoup plus grand

qui sont lésées : la hauteur de la plupart des tumeurs a diminué; souvent la portion distale a disparu et paraît comme abrasée. Cette sorte de lésion paraît due à une usure mécanique, résultant du brassage des vagues. Dans d'autres cas, la partie centrale de la tumeur est éliminée et l'extrémité distale présente un aspect en cratère. Toutefois, il est manifeste que l'activité cellulaire n'est pas abolie, car on voit les bords de la tumeur bourgeonner et donner des nodules néoplasiques en pleine prolifération.

Il n'est cependant pas rare de voir certaines tumeurs réduites à leurs portions basilaires et dont les tissus sont morts. Ce qui reste de la tumeur est alors constitué entièrement par un tissu très dur, brun rougeâtre, et l'on ne trouve plus trace du nodule en voie de prolifération. Cet aspect devient de plus en plus fréquent à mesure que la saison s'avance, et, vers l'automne, toutes les tumeurs de certains pieds sont réduites à ces restes cicatriciels.

Sores. — A l'époque de l'année où les sores se constituent, nous avons pu examiner de nombreux Saccorhiza bulbosa porteurs de tumeurs et nous avons pu constater que les sores ne se développent jamais à la surface du nodule néoplasique. Ils se développent assez souvent sur la face opposée, au point correspondant à la tumeur. Dans nombre de cas, toutefois, leur formation paraît y être inhibée également.

L'évolution de la tumeur, telle que nous l'avons décrite ici, répond au cas le plus général. Toutefois, il existe des modalités différentes qui ne sont pas rares. Selon que la prolifération cellulaire s'effectue selon une direction dominante, ou simultanément selon plusieurs directions différentes, la morphologie de la tumeur change profondément, et constitue des formations d'une structure plus complexe. Nous allons examiner rapidement les principaux types, forcément schématisés pour les besoins de la description.

TUMEURS DÉVELOPPÉES SUR LES DEUX FACES DU THALLE

La prolifération du tissu néoformé peut s'effectuer selon deux directions opposées. La tumeur se développe alors symétriquement de part et d'autre du plan médian constitué par la lame. Ce type particulier de développement ne se rencontre presque jamais sur le stipe. Il est au contraire fréquent sur la fronde, et tout particulièrement dans les parties peu épaisses, comme les lanières.

Deux cas peuvent se présenter : tantôt cette structure est primitive. La symétrie par rapport au plan de la fronde s'observe alors dès les plus jeunes stades de la tumeur. Cette dernière appa-

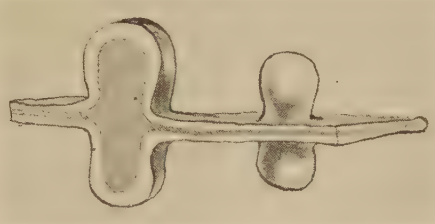


Fig. 5. — *Tumeur à développement symétrique.*

On voit sur la surface de section la moelle en continuité avec le tissu de la tumeur.

(Augm. d'un tiers.)

raît ainsi comme une lentille incluse dans les tissus de la fronde, et se développe ultérieurement de part et d'autre de celle-ci.

Il est plutôt rare que la tumeur garde une symétrie parfaite, au cours de son évolution, Le plus souvent, la vitesse de croissance du tissu néoplasique n'est pas égale sur les deux faces du thalle,

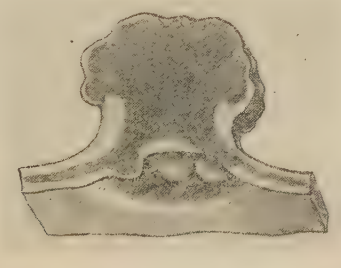


Fig. 6. — *Acquisition secondaire d'une symétrie bilatérale.*

La tumeur qui a poussé sur un des côtés du thalle commence à bourgeonner vers la face opposée.

(Augm. d'un tiers.)

et l'une des parties de la tumeur finit par acquérir un beaucoup plus grand volume que l'autre.

La structure symétrique est souvent acquise tardivement : elle est alors secondaire. Il s'agit dans ce cas de tumeurs d'abord sem-

blables au type général précédemment décrit, qui modifient ultérieurement leur aspect. Au niveau de cette dépression en cupule que nous avons signalée chez ces tumeurs apparaissent de petits nodules néoplasiques.

Ces petits nodules, en nombre variable, s'accroissent dans un sens opposé à celui de la tumeur primitive. Ils comblent peu à peu la dépression dont ils sont issus, puis font saillie en dehors, du côté de la fronde opposé à l'ancienne tumeur. Par ce processus secondaire, la néoplasie acquiert l'aspect symétrique décrit au début de ce paragraphe.

On constate dans le précédent exemple l'existence de centres secondaires de prolifération qui remanient la structure primaire et orientent la croissance de la tumeur dans des directions nouvelles. Cet exemple constitue une transition vers des cas à structure plus complexe, que nous décrirons maintenant.

PROLIFÉRATIONS EN NAPPES

Nous désignons ainsi une forme particulière de tumeur, qui résulte de la transformation néoplasique de la fronde sur une

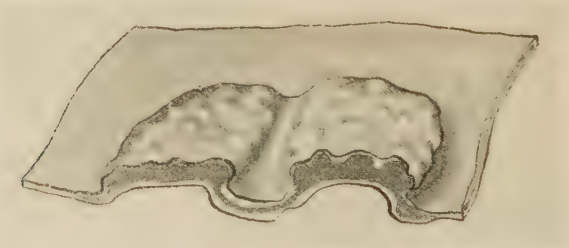


Fig. 7. — *Tumeur en nappe*, où l'accroissement en surface prédomine sur l'accroissement en hauteur.

large surface. L'épaisseur du tissu de la tumeur est deux ou trois fois celle du thalle normal, et paraît sensiblement la même au niveau de tous les points. Le contour, plus ou moins festonné, est grossièrement ovalaire, et le tissu néoplasique est nettement limité du thalle sain par un bourrelet. Ce dernier semble constitué par un grand nombre de petits nodules fusionnés les uns aux autres, de sorte que la surface du bourrelet est couverte d'innombrables bosselures. C'est cette région périphérique qui paraît être la zone d'active prolifération de cette formation.

Toute la portion pathologique se développe surtout sur une des faces du thalle, l'autre restant normale, ou presque.

L'ensemble de la surface malade forme des plissements très accusés : la lame présente des enroulements partiels, compensés au delà par des enroulements en sens contraire : ces phénomènes de torsion montrent le rapide accroissement des tissus de la tumeur, qui augmente sa surface beaucoup plus rapidement que le thalle normal.

Le caractère dominant de cette formation est donc de se développer en surface, au lieu de s'accroître en hauteur. De plus, l'origine de la prolifération ne paraît pas naître en un point unique, mais sur une large surface où la croissance débute simultanément.

TUMEURS EN COURONNES

Il s'agit là d'une formation assez rare, mais qui est intéressante, du fait qu'elle semble se développer au niveau d'anciennes érosions produites par l'Helcion pellucidum.

La forme générale de la tumeur est bien celle d'une couronne

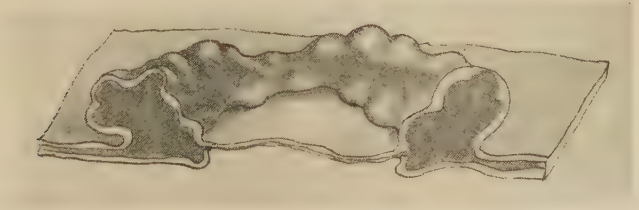


Fig. 8. — *Tumeur en couronne, sectionnées en son milieu.*

Au centre, une portion de thalle aminci et rongé est la trace de l'érosion provoquée par l'Helcion pellucidum.

(Augm. dun tiers.)

ou d'un anneau; celle-ci s'est développée sur une face de la fronde, partie de l'algue où on la trouve exclusivement.

Le tissu de la tumeur, couvert de bosselures qui résultent de l'union plus ou moins étroite de nodules néoplasiques, forme un bourrelet circulaire dont le bord externe est fortement surélevé. Du côté de sa concavité, la hauteur du bourrelet diminue rapidement et limite une dépression centrale où le tissu est aminci et altéré, mais nullement néoplasique : on peut encore y recon-

naître la trace d'une ancienne érosion due à l'action destructrice de l'Helcion pellucidum. On peut quelquefois retrouver l'emplacement des lèvres de la blessure, et ces dernières semblent constituer le point de départ de la réaction néoplasique.

Cette érosion centrale, de forme ovalaire, a un diamètre bien supérieur à celui des blessures fraîches faites par le mollusque. Mais on peut observer fréquemment ce fait pour les érosions anciennes, surtout si elles se trouvent situées dans la zone stipofrondale. On y voit en effet de grandes surfaces un peu déprimées, limitées par une lèvre peu nette, et dont les limites tendent à s'effacer. Il s'agit d'érosions anciennes, dont la surface a été notablement accrue par la croissance propre de l'algue. Dans une certaine mesure, les dimensions de l'érosion et l'effacement des lèvres de la plaie permettent d'apprécier l'âge de la blessure. Comme il semble que ce soit au niveau des lèvres de la plaie que se développe le tissu néoplasique, on doit se demander s'il n'existe pas un rapport entre l'existence de ces blessures dues au mollusque et l'apparition des tumeurs.

ROLE DE L'HELCION PELLUCIDUM

Il nous a donc paru intéressant d'examiner attentivement les érosions provoquées par l Helcion, dans l'hypothèse où il existerait une relation constante entre cette action corrosive et l'apparition des tumeurs.

L'Helcion pellucidum se rencontre constamment sur le Saccorhiza bulbosa et le nombre des individus qui vivent sur cette algue est immense. Il est d'ailleurs également fréquent sur diverses Laminaria, ainsi que sur diverses autres Phéophycées. On le trouve aussi sur des algues rouges, mais plus rarement. On le rencontre sur le Saccorhiza bulbosa à toutes les époques de l'année; le mollusque broute le thalle de l'algue et provoque tantôt des lésions de formes ovales taillées à l'emporte-pièce, généralement assez profondes, tantôt des lésions toutes superficielles, qui tracent le chemin parcouru par le mollusque à la surface du thalle.

Les érosions des formes ovales ont une profondeur variable et elles intéressent parfois la presque totalité de l'épaisseur du thalle. Les plus gros individus se rencontrent principalement sur le stipe ou sur le bulbe, où ils séjournent longtemps et creusent de véritables loges, d'autant plus creuses que les tissus lésés de l'algue réagissent, en formant un bourrelet périphérique.

Les pieds du Saccorhiza bulbosa sont très inégalement envahis par le mollusque. On peut observer côte à côte des individus littéralement envahis par l'Helcion et dont le thalle est entièrement couvert d'érosions profondes, d'autres individus sont presque indemnes de lésions, sans qu'on puisse saisir la raison de ces différences.

Il y a-t-il un rapport entre la présence de ces érosions et l'apparition de tumeurs sur Saccorhiza bulbosa ? La fréquence du mollusque sur le thalle de l'algue et la fréquence des tumeurs sur celle-ci n'offrent aucun rapport visible. Ainsi les pieds du Saccorhiza les plus envahis par l'Helcion ne présentent presque jamais de tumeurs. De plus, les érosions dues au mollusque sont cons-

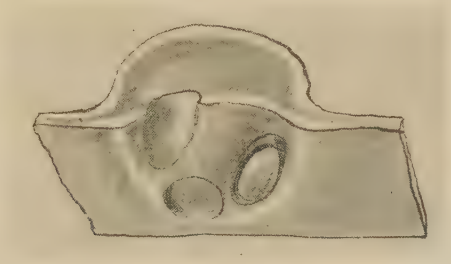


Fig. 9. — *Erosions provoquées par l'Helcion pellucidum à la base d'une tumeur.*

La blessure pénètre dans le tissu de la tumeur.
On voit un des mollusques en place, à droite.
(Augm. d'un tiers.)

tantes sur tous les Saccorhiza adultes, alors que les individus porteurs de tumeurs sont rares et localisés à certains points de la côte.

Enfin, dans la majorité des cas, on n'observe aucun rapport précis entre la position des tumeurs et l'emplacement des érosions dues au mollusque.

Il est commun de voir le mollusque, ou l'érosion qu'il a laissée, localisés à la base de la tumeur, dans la dépression que nous signalions plus haut. Cette région paraît même un lieu de prédilection pour le mollusque. Mais, bien qu'il soit malaisé d'apprécier l'âge de la tumeur et celui de l'érosion, il nous paraît évident que la fixation de l'Helcion est postérieure à l'apparition de la tumeur : c'est l'existence de celle-ci qui a déterminé la fixation du mollusque.

Si l'on examine des tumeurs très jeunes, on voit qu'elles sont souvent éloignées de toute érosion.

Quelques cas cependant doivent être interprétés dans un sens différent. C'est ainsi que nous avons pu observer, en 1927 et 1928, quelques cas de tumeurs en couronnes, que nous avons décrites plus haut, chez des Saccorhiza jeunes parvenus au stade de l'ombrelle. Sur un de ces pieds, le thalle ne portait qu'une unique tumeur, développée sur la fronde autour d'une large érosion ovalaire, et le tissu néoplasique semblait prendre naissance au contact des lèvres de l'érosion. Le reste de la fronde ne portait par ailleurs que de rares érosions superficielles, beaucoup plus récentes visiblement que celle qui centrait la tumeur. Nous avons pu observer par la suite quelques exemples analogues, de sorte que cette disposition ne nous a pas semblé être l'effet du hasard.

Il semble donc que, si les conditions d'observation ne sont pas trop complexes, ce qui est le cas sur les thalles jeunes, peu lésés par le mollusque, on puisse noter l'existence d'un rapport étroit entre ces deux formations pathologiques. Il nous paraît d'ailleurs que, même si l'érosion due à l'Helcion peut être à l'origine de la tumeur, d'autres facteurs indispensables doivent exister également.

Ayant examiné ainsi les rapports qui peuvent exister entre les lésions du thalle et les tumeurs, nous allons examiner la disposition des tumeurs sur l'algue et voir s'il existe entre elles des relations topographiques qui puissent contribuer à expliquer leur mode de formation.

RELATIONS TOPOGRAPHIQUES DES TUMEURS ENTRE ELLES

Disposition en files linéaires. — Le nombre des tumeurs qui existent sur un même individu peut être très élevé ; il peut y en avoir des centaines de toutes tailles, isolées les unes des autres ou plus ou moins confluentes. Parfois la situation de ces tumeurs les unes par rapport aux autres peut paraître quelconque.

Mais il est un cas particulièrement fréquent et qui est d'un intérêt spécial, sur lequel nous reviendrons plus tard : il s'agit des dispositions des tumeurs *en chapelets*. Cet aspect ne se retrouve avec une égale fréquence, ni à tous les âges, ni dans les diverses portions du thalle. Il est rare, en effet, chez les individus très jeunes, très fréquent chez les plus âgés, et c'est au printemps et en été qu'on observe le plus souvent cette disposition. Pendant

ces époques, il n'est guère d'individu porteur de tumeur qui ne présente ce mode de groupement.

Ces formations présentent un certain nombre de caractères

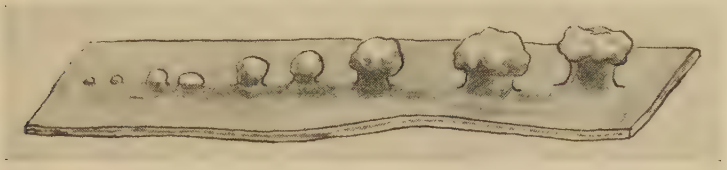


Fig. 10. — *Tumeurs disposées en chapelet linéaire.*
Les tumeurs les plus jeunes occupent l'extrémité de la file.
(Grandeur naturelle.)

communs qui sont assez constants. On ne les trouve que rarement sur le stipe, mais presque toujours sur la fronde. La disposition des chapelets de tumeurs ne semble pas due au hasard,

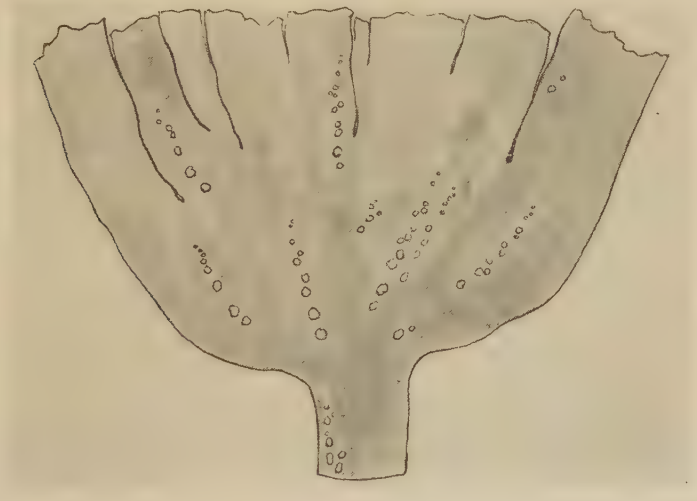


Fig. 11. — *Portion basilaire de la fronde, montrant l'orientation des files de tumeurs.*

mais obéit à certaines règles. Presque toujours les tumeurs sont disposées parallèlement aux directions qui, partant de la zone stipo-frondale, vont en rayonnant vers la périphérie de la lame.

Elles sont souvent situées au bord des lanières. Souvent aussi

il y en a plusieurs au voisinage de la zone stipo-frondale, disposées en rayons de roue, sur une même fronde. Ces files rectilignes comportent un nombre variable de tumeurs, mais qui peut atteindre le chiffre de dix ou quinze nodules plus ou moins bien isolés les uns des autres. La distance qui les sépare varie, en effet : tantôt cette distance est grande, atteignant un ou plusieurs centimètres, il est remarquable que ces tumeurs sont alors le plus souvent déjà grandes et âgées ; tantôt les tumeurs sont très rapprochées ou même accolées, et généralement peu évoluées encore. Dans le premier cas, l'ensemble du chapelet mesure 10 à 20 centimètres de long, il est bien moindre dans le second cas.

En outre, il est rare que les dimensions des tumeurs soient identiques d'une extrémité à l'autre de la série. Elles sont souvent rangées par ordre de grandeur décroissante d'une extrémité à l'autre de la file. Dans ce cas, la tumeur la plus petite est souvent la plus éloignée de la zone stipo-frondale. Parfois cependant, les plus grosses tumeurs sont placées dans la région moyenne, et les plus petites aux deux extrémités de la file.

Un dernier caractère, commun d'ailleurs à la majorité des tumeurs développées sur la fronde, est que toutes les néoformations qui constituent la file se développent sur une même face de la fronde.

On voit que l'orientation de ces chapelets n'est pas quelconque : elle se fait dans le même sens que l'accroissement de la fronde et se superpose à l'orientation des grandes cellules tubulaires de la moelle. On a vraiment l'impression que c'est la croissance de l'algue et la structure profonde de la moelle qui imposent son orientation à cette formation pathologique.

RÉPARTITION DES TUMEURS A LA SURFACE DU THALLE

Les tumeurs se développent sur toutes les parties du thalle, mais leur fréquence n'est pas la même en ces différents points, et leur mode de groupement varie dans une certaine mesure selon la localisation.

Bulbe. — La portion de l'algue qui porte le plus rarement des tumeurs, et le moins abondamment, est le bulbe. Les nodules néoplasiques y sont peu nombreux et s'y rencontrent à l'état de tumeurs isolées. On les trouve à tous les âges de la plante, mais ils persistent sur le bulbe plus longtemps qu'ailleurs : il n'est

pas rare de trouver vers la fin de l'automne des pieds de Saccorhiza réduits à leur bulbe et qui portent encore des tumeurs.

Stipe. — Il est au contraire courant de rencontrer des néoplasies sur le stipe, parfois à l'exclusion de toute autre localisation. Le plus souvent, ce sont des nodosités isolées, quelquefois des files linéaires de tumeurs.

Parfois une large portion du stipe est complètement couverte de fines nodosités très rapprochées les unes des autres. Le stipe présente alors une surface chagrinée, parsemée de place en place de tumeurs plus grandes : l'aspect est celui d'une éruption miliaire.

Les godrons sont un lieu particulièrement fréquent de localisation. Les tumeurs semblent se développer indifféremment sur les deux faces du stipe, ce qui n'est pas le cas pour la fronde, comme nous le verrons ultérieurement.

Fronde. — C'est sur la fronde qu'on trouve les tumeurs avec la plus grande fréquence. Il est rare qu'elles y fassent défaut.

Un fait assez curieux s'y présente : dans la majorité des cas, toutes les tumeurs développées sur une même fronde prolifèrent sur la même face, l'autre restant indemne ou presque.

Tous les types de tumeurs que nous avons décrits peuvent s'observer sur la fronde, mais tout particulièrement les formations linéaires et les tumeurs en couronnes.

On n'observe pas de rapport entre le mode de localisation des tumeurs et l'âge de la plante ; l'apparition des néoplasies semble pouvoir débuter en un point absolument quelconque du thalle.

RÉPARTITION DES PIEDS PORTEURS DE TUMEURS DANS LES CHAMPS DE SACCORHIZA

Si l'on compare le petit nombre des algues porteuses de tumeurs à l'énorme masse d'individus sains, on constate la rareté relative des individus pathologiques ; mais on constate en outre que la présence de pieds anormaux est très irrégulière dans les champs de Saccorhiza bulbosa.

Des champs très étendus de cette algue ne présentent, autant que nous l'avons observé, aucun exemplaire porteur de tumeur. On peut même ajouter que ce caractère persiste plusieurs années de suite, et que certaines régions de la côte où se développe le Saccorhiza ne présente jamais d'individus porteurs de tumeurs. En certains autres points, l'on est assuré d'en trouver à coup sûr,

et nous avons pu déterminer dans la région côtière des environs de Roscoff un certain nombre de zones où l'on trouvait toujours des individus pathologiques. Ces zones gardaient ce caractère d'une année à l'autre.

Si dans un champ de Saccorhiza bulbosa on trouve une algue porteuse de tumeurs, il est exceptionnel que l'on n'en trouve pas beaucoup d'autres dans le voisinage immédiat. Nous avons toujours constaté, au contraire, que ces individus anormaux étaient groupés sur des surfaces limitées, en constituant des foyers où la proportion des pieds malades est considérable. On voit donc qu'il existe des régions privilégiées où les individus anormaux sont nombreux, et que ce caractère ne varie ni avec les saisons, ni au cours de plusieurs années. D'autres régions, beaucoup plus étendues, ne présentent que des individus normaux et ce caractère persiste également d'une année à l'autre.

On a donc l'impression que certaines circonstances locales où les facteurs écologiques doivent jouer un rôle important favorisent l'apparition des tumeurs sur le Saccorhiza dans certaines régions, et l'empêchent ailleurs.

Certaines observations que nous avons faites, relatives à la situation de ces foyers, confirment cette supposition. On constate, en effet, que ces zones sont situées en des points de la côte qui possèdent certaines caractéristiques communes. L'un des facteurs qui semble avoir un rôle important est l'agitation des eaux: c'est, en effet, dans les régions fortement battues par les vagues qu'existent les zones à Saccorhiza porteurs de tumeurs. Ces zones sont le plus souvent exposées vers le large. Les régions plus calmes, les bassins bien protégés contre la violence des vagues ne présentent que des Saccorhiza normaux.

La situation des Saccorhiza par rapport au niveau des basses eaux, ou plutôt par rapport à la profondeur optima pour le développement de ces algues, a également son importance. A la limite supérieure de leur aire d'extension, les Saccorhiza de petite taille sont presque toujours normaux. Cette région semble peu favorable au développement des tumeurs sur l'algue. C'est, au contraire, dans la région située plus bas, qui ne se découvre que quelquefois dans l'année, que les individus pathologiques deviennent nombreux.

En résumé, on voit que la répartition des pieds infectés suit certaines règles : ces pieds sont groupés en foyers, et ces foyers se développent en certains points privilégiés.

Il est frappant de constater, comme nous l'exposerons plus

tard, que ces zones favorables au développement des tumeurs sur Saccorhiza bulbosa favorisent également l'apparition de formations néoplasiques sur des algues rouges, comme Chondrus crispus et Cystoclonium purpurascens. Il semble qu'en ces régions sont réunies un ensemble de conditions qui permettent l'apparition de tumeurs sur diverses espèces d'algues.

CHAPITRE IV

STRUCTURE ET HISTOGÉNÈSE DES TUMEURS

Nous avons étudié au précédent chapitre, du point de vue de la morphologie externe, l'évolution des tumeurs de Saccorhiza bulbosa et les différents aspects que peuvent revêtir les tissus pathologiques.

Nous nous efforcerons de préciser, dans ce chapitre, la genèse de la tumeur depuis les stades initiaux et d'analyser la nature des cellules qui constituent le noyau néoplasique.

La structure normale du Saccorhiza bulbosa est assez complexe et il y existe plusieurs types de cellules fortement différenciés. Leur étude a été entreprise depuis longtemps à maintes reprises sans être complètement achevée, même du simple point de vue de la morphologie et de l'histogénèse normale. En ce qui concerne l'étude de la physiologie de ces algues, nos connaissances sont fort peu avancées, et le rôle physiologique des divers types de cellules dans l'économie de la plante est mal connu.

L'une des conséquences de l'imperfection de nos connaissances sur ces questions est une certaine obscurité dans la terminologie, divers types de cellules étant parfois désignés par un même terme; cela provient du fait que les divers auteurs utilisent des terminologies différentes. Nous suivrons donc la description si précise que le professeur Sauvageau a donnée dans son beau travail sur les « Laminaires des côtes de France », dans lequel il a fixé l'origine et le développement des divers éléments cellulaires qui constituent le thalle de ces Phéophycées. La terminologie que ce savant a proposée est assez complexe, mais très précise, et c'est elle que nous utiliserons. Comme elle n'est pas adoptée par tous les auteurs, nous croyons utile de la rappeler en faisant une très brève description de la structure normale du thalle.

A. — Structure du thalle normal.

Les éléments diversement différenciés qui constituent le thalle adulte proviennent des cloisonnements de la plantule. Celle-ci, formée au début d'une seule assise de cellules, augmente de volume; premièrement, grâce à un accroissement intercalaire localisé à l'union du stipe et de la lame, c'est-à-dire dans la zone stipo-frondale ; deuxièmement, par suite d'un accroissement intercalaire dispersé, qui contribue à l'allongement et surtout à l'élargissement de la lame. Ces deux modes de division se poursuivent d'ailleurs de pair pendant la vie de la plante.

L'accroissement en épaisseur de la lame se manifeste ensuite au niveau de la zone stipo-frondale, et donne un thalle formé de deux, quatre, puis de plusieurs assises cellulaires.

a) Cloisonnement du stipe. — La partie basale du stipe est primitivement composée d'une seule file de cellules cloisonnées transversalement. La division se poursuit dans le sens radial par des divisions en quadrant; puis par des cloisons périclines qui isolent un cordon central et une assise périphérique. Cette dernière continue à se cloisonner, d'une part, dans le sens radial (ce qui permet l'augmentation en diamètre), et par des cloisons périclines; d'autre part, celles-ci détachent vers l'intérieur des assises circulaires de cellules, qui sont à l'origine de la moelle et de l'écorce. Cette propriété lui a fait donner le nom de *méristoderme,* créé par le professeur Sauvageau et que nous utiliserons par la suite.

Au cordon primitif de la moelle s'ajoutent ainsi deux ou trois assises circulaires. En dedans du méristoderme s'isole l'assise corticale interne, et, plus profondément, les assises qui constituent la moelle primitive. Celle-ci augmente donc en épaisseur par l'adjonction d'assises nouvelles d'origine méristodermique. A mesure que la moelle s'épaissit, les cellules qui la constituent arrondissent leurs contours et s'écartent les unes des autres par gélification de la lamelle moyenne de leur membrane. Cette gelée porte le nom de *cœnoglée.* Un phénomène de bourgeonnement contribue alors à l'accroissement en épaisseur de la moelle : les cellules médullaires émettent dans la *cœnoglée* des bourgeons latéraux qui s'allongent rapidement. Les éléments de la moelle se différencient alors : certains prennent un aspect tubulaire, s'allongent dans le stipe plat et s'intercalent dans la lame poly-

stromatique. Ces éléments, très longs, peu ramifiés, à noyaux nombreux et fusiformes, peuvent atteindre la longueur tout entière de la plante, sans présenter de cloisons; ce sont les *solénocystes*. Ces éléments proviennent donc des cellules primitives de la moelle ou de leur bourgeonnement. D'autres éléments, beaucoup moins longs, font la jonction entre les cellules médullaires d'une part et les cellules corticales de l'autre : ce sont les *allélocystes*.

b) Cloisonnement de la lame. — Le stipe s'est donc différencié, et s'est accru en diamètre et en hauteur; il se compose du

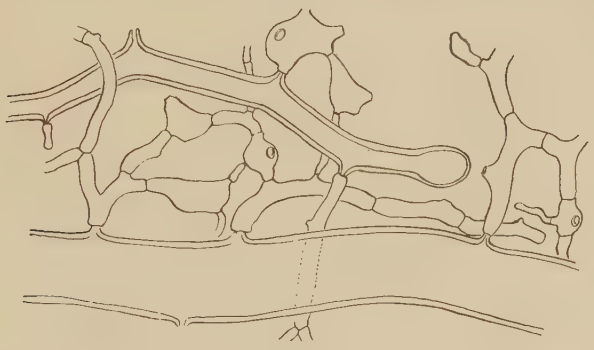


Fig. 12. — *Eléments de la moelle normale.*

Les grands éléments, à membrane épaisse, de forme cylindrique, sont les *solénocystes*. Ils donnent naissance à des cellules petites, polymorphes, qui sont les *allélocystes*.

méristoderme à l'extérieur et, plus profondément, de l'assise corticale et de la moelle avec ses divers éléments. Ceux-ci s'insinuent dans la lame polystromatique.

Arrondi à sa base, le stipe devient plat au-dessus du bourrelet qui est l'origine du bulbe. Au cours de la croissance, le stipe plat est presque seul à croître, alors que le stipe rond se détruit peu à peu. Pendant ce temps, la lame s'accroît en épaisseur au niveau de la région stipo-frondale : le méristoderme, par des cloisonnements périclines, sépare des assises successives; celles-ci constituent les assises corticales de la lame. En même temps, la surface de cette lame augmente. Des divisions anticlines accroissent le nombre des cellules méristodermiques. Les assises sous-jacentes suivent cet accroissement en surface, en augmentant de volume,

mais sans se diviser; de la sorte, plus les couches corticales sont profondes, plus leurs dimensions sont grandes, ces couches étant plus anciennement séparées du méristoderme.

Une évolution particulière caractérise certaines cellules corticales; elle donnera naissance aux cellules *multiclaves*. Originellement voisines du méristoderme, ces cellules s'écartent de leurs voisines, tandis que des cellules nouvelles, d'origine méristodermique, s'intercalent dans les espaces laissés libres, s'accroissent et refoulent les multiclaves vers la profondeur. Ces éléments émigrent ainsi jusqu'au contact de la moelle. Corrélativement à ce changement de conditions se produisent des changements de

Fig. 13. — *Schéma indiquant la forme des cellules multiclaves, constituant le feuillet interne de l'écorce.*

Les multiclaves sont reliées entre elles par des allélocystes.

forme. Les cellules multiclaves s'allongent, se mettent en contact soit directement, soit par les protubérances qui deviendront des allélocystes. Elles atteignent ainsi de grandes dimensions (plus d'un millimètre de long, parfois sur 50 μ de large); elles présentent des noyaux nombreux et constituent un feuillet intermédiaire entre la moelle et l'écorce.

Comme on le voit, tous les tissus de l'algue proviennent du méristoderme : au niveau du stipe, ce dernier produit l'écorce et la moelle; au niveau de la lame, il donne naissance à l'écorce. Quant aux éléments médullaires présents dans la lame, ils proviennent du stipe. Les *solénocystes* proviennent de la moelle exclusivement; les *allélocystes* proviennent tantôt de la moelle, tantôt

de la partie profonde de l'écorce. Les allélocystes sont des éléments de petite taille, en voie de division active, souvent multinucléés, d'un remarquable polymorphisme : tantôt de forme cylindrique, tantôt renflés en vessie, souvent disposés en files. Souvent aussi ils s'anastomosent soit entre eux, soit avec des éléments d'autres types; ils forment de la sorte des réseaux étendus, à structure compliquée. Comme on le verra plus loin, ces éléments jouent dans la genèse des tumeurs un rôle essentiel.

B. — Etude microscopique de la tumeur.

Nous allons étudier maintenant la constitution des tissus pathologiques en nous efforçant de préciser le point de départ du nodule inflammatoire, son évolution et la nature des cellules qui le constituent.

La structure de la tumeur adulte est difficile à analyser du fait de l'enchevêtrement très serré des éléments qui la forment; la méthode des coupes histologiques est souvent impuissante à révéler avec certitude la nature et l'origine des cellules pathologiques. Nous avons souvent été obligé de recourir à des coupes épaisses faites à main levée, permettant de suivre dans leur intégrité les cellules contournées à l'extrême qui constituent la tumeur, et d'étudier leur rapport avec les éléments voisins. Souvent aussi, les dissociations nous ont donné d'utiles renseignements : dans de nombreux cas, en effet, les éléments cellulaires serrés et moulés les uns sur les autres rendent les coupes opaques et ne permettent pas d'individualiser chaque élément, de reconnaître sa forme ou d'apprécier ses dimensions, le nombre des noyaux, etc.

C'est d'ailleurs en étudiant les stades les plus jeunes de la tumeur que l'on saisira la genèse de sa structure. Nous décrirons la constitution histologique de la tumeur en la suivant dans son développement à partir des stades primitifs.

a) Stade de début. — A ce moment, le nodule inflammatoire est invisible à l'œil nu; mais, en examinant un fragment de thalle pathologique soit par la méthode des coupes sériées, soit par celle des coupes à main levée et montées dans un milieu éclaircissant, on peut observer les premiers stades de la réaction cellulaire.

Analysons une coupe épaisse qui a l'avantage de nous permettre de saisir d'un coup plusieurs assises cellulaires. Le méristoderme

et l'écorce ne présentent pas trace de prolifération : ces éléments cellulaires ne paraissent augmentés ni comme nombre, ni comme taille; leur cytoplasme ne présente rien de pathologique. Bref, l'aspect des deux couches externes du thalle paraît absolument normal. La moelle, examinée à un faible grossissement, présente, en un ou en plusieurs points voisins, des zones plus opaques. Ces zones opaques prennent l'aspect d'un minuscule nodule, ou d'une bande plus ou moins allongée, incluse dans la moelle : tantôt au centre même, tantôt vers les bords, tantôt à la limite de la moelle et de l'écorce. Ces différentes localisations du foyer primitif ont, comme nous le verrons par la suite, une importance considérable pour la morphologie de la tumeur. A ce stade, le nodule inflammatoire est encore mal délimité du tissu qui l'entoure ; il s'en distingue avant tout par la disposition plus compacte du tissu qui le constitue. Un grossissement plus fort permet d'analyser la structure du nodule inflammatoire. Les longs éléments de la moelle (solénocystes) conservent leur aspect normal. On peut les suivre facilement sur une assez grande distance : leur forme, leur diamètre restent les mêmes. Ils ne présentent aucun indice d'altération ou de prolifération. Le plus souvent, ces éléments sont situés en dehors du nodule inflammatoire, qui les refoule parfois légèrement, et auquel ils restent tangents. Ce n'est pas une règle absolue d'ailleurs, et l'on peut voir ces solénocystes pénétrer la masse compacte du tissu en voie de prolifération sans prendre une part active à la réaction inflammatoire.

Ces grands éléments se comportent différemment suivant les cas : les uns semblent incapables de fournir des éléments nouveaux et représentent vraisemblablement des éléments vieillis ; d'autres, au contraire, bourgeonnent activement et fournissent les allélocystes qui prendront part à la constitution du nodule inflammatoire. Ces allélocystes vont dès maintenant intervenir exclusivement dans la constitution du nodule inflammatoire initial. On les voit, en effet, se grouper entre eux sous forme d'un peloton très dense qui se relie par des anastomoses aux tissus voisins.

A mesure qu'ils entrent dans la constitution du nodule inflammatoire primitif, on voit se modifier leur aspect extérieur : ils deviennent vésiculeux, présentent des varicosités sur toute l'étendue de leur trajet, leurs dimensions également varient considérablement et sont de 50 à 200 μ en longueur et de 10 à 100 μ selon leur plus petit diamètre. Certains d'entre eux s'hyperplasient

et atteignent des diamètres trois et quatre fois supérieurs à ceux des éléments moyens.

Les éléments qui constituent la portion centrale du nodule forment entre eux un réseau inextricable d'anastomoses qui va en se simplifiant à mesure qu'on approche de la périphérie : à ce niveau, les cellules tendent de plus en plus à se transformer en files allongées.

Entre les diverses cellules du nodule, dans l'épaisseur même des membranes, on voit par transparence des cordons irréguliers, tantôt extrêmement ténus, tantôt se présentant sous la forme d'amas situés aux points de jonction de plusieurs membranes : il s'agit d'amas bactériens. Ces bactéries enserrent les cellules d'un réseau à mailles irrégulières dessiné par les méats intercellulaires. Ce réseau bactérien est visible dans le nodule inflammatoire et distribué d'une façon à peu près régulière. Les cellules situées au voisinage de ces amas présentent un protoplasme beaucoup plus abondant que celui des allélocystes normaux et leurs noyaux sont plus nombreux que ceux des cellules normales; le bourgeonnement, très actif, est visible sur les coupes colorées ou les dissociations. Nous reviendrons plus tard sur le détail de la structure cytoplasmique des cellules proliférantes.

Le stade que nous décrivons se voit assez rarement, même dans les tissus qui sont abondamment infectés. Il est probable qu'il dure généralement peu de temps, du fait de la croissance extrêmement rapide de la tumeur.

b) Croissance du nodule inflammatoire. — Les stades ultérieurs de la croissance du tissu inflammatoire se présentent, quant à leur morphologie, sous des aspects différents selon le point de départ de l'inflammation. Les aspects pourront varier, en effet, selon que celle-ci prend son origine dans la partie moyenne de la moelle ou dans les portions plus rapprochées de l'écorce ; divers facteurs, tels que l'inégale résistance mécanique des tissus ou les conditions de nutrition des tissus en voie de prolifération, orientent la croissance des cellules néoplasiques dans des sens différents.

Examinons d'abord le cas où le tissu prend son origine dans la portion moyenne de la moelle. A ce stade, plus avancé que celui décrit plus haut, le nodule inflammatoire forme une petite masse sphérique bien délimitée, beaucoup plus opaque que le tissu environnant. Cette opacité est absolument frappante et la délimitation du nodule l'est encore plus; l'orientation des éléments d'une part,

fort différente de celle du tissu normal, et d'autre part l'existence d'une sorte de capsule constituée par des cellules plus ou moins allongées sur cette surface sphérique, contribuent à marquer le contraste existant entre le tissu pathologique et les portions demeurées saines.

Orientation des éléments dans le nodule inflammatoire. — Les

Fig. 14. — *Cellules de la partie périphérique, distale, de la tumeur.*

Bactéries très abondantes dans les membranes intercellulaires. Dans le cytoplasme de ces petites cellules, les plastes, de petites dimensions, sont figurés en noir; les granulations claires représentent les précipités phénoliques. (Grossissement semblable à celui de la fig. 15.)

éléments cellulaires prennent en général une orientation assez nette; ils ne la présentent pas aux tout premiers stades. L'aspect des cellules change également. On voit, en effet, la majorité de ces éléments s'orienter en rayonnant à partir du centre de la tumeur; toutefois, c'est dans deux directions opposées, perpendiculaires au plan de la lame, que la croissance est la plus marquée Cette

orientation est très visible sur des coupes perpendiculaires au thalle et menées parallèlement aux solénocystes axiles.

La croissance du tissu inflammatoire est beaucoup plus active à la périphérie ; à ce niveau les cellules, généralement cylindriques, sont orientées en files plus ou moins nettes, rayonnantes autour du centre de la tumeur. Le protoplasme est très abondant et parsemé de noyaux extrêmement nombreux ; certains de ces noyaux s'engagent, avec une petite masse protoplasmique, dans des

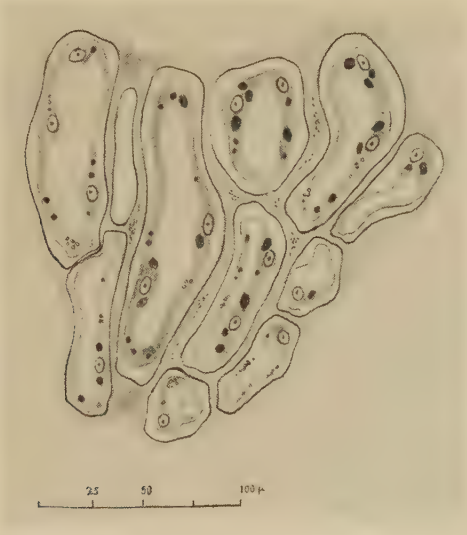


Fig. 15. — *Cellules de la partie centrale de la tumeur.*

Cytoplasme peu abondant. Plastes de plus grandes dimensions. Bactéries rares.

bourgeons qui formeront des cellules nouvelles, témoignant ainsi de l'activité de la prolifération.

Dans les méats intercellulaires, les cordons bactériens sont volumineux et se disposent en couronne à la partie externe de la tumeur.

Partie centrale. — Les caractères de la partie centrale du nodule sont différents. Les cellules y sont souvent plus grandes. Le protoplasme est proportionnellement moins abondant et le nombre des noyaux moins élevé que dans les cellules périphériques.

D'autre part, la présence de cordons bactériens y est plus rare

que dans la région externe : ceux-ci sont grêles et à peine visibles. Il apparaît clairement que l'activité de ces cellules centrales est ralentie; les cellules se divisent peu, mais s'accroissent, par contre, en volume. Leurs caractères se rapprochent davantage de ceux des allélocystes normaux. Toutefois le tissu reste compact et la cœnoglée manque presque totalement.

L'examen de ce stade permet de constater que les zones d'active

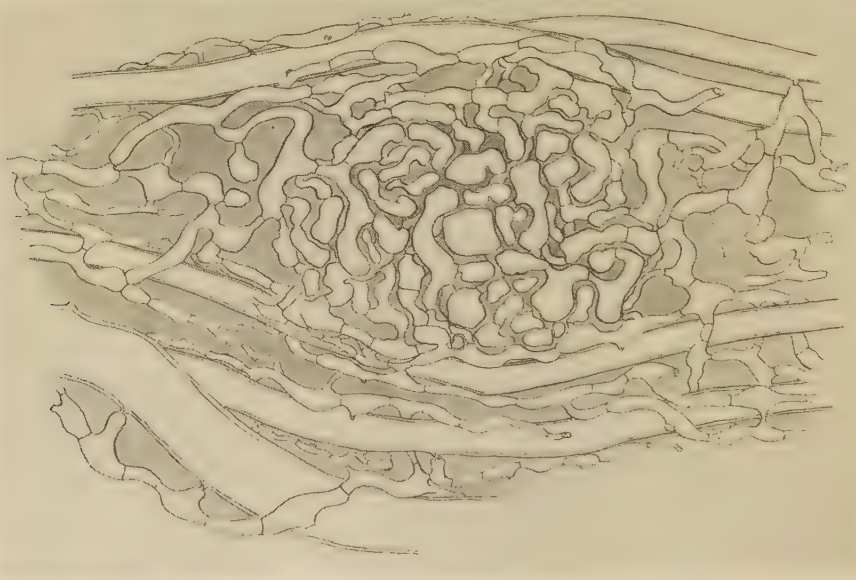


Fig. 16. — *Aspect schématique d'un nodule jeune.*

Il est constitué par des allélocystes hypertrophiés en continuité avec des allélocystes normaux de la moelle. La tumeur repousse en dehors les solénocystes.

Coupe parallèle à la surface du thalle.

prolifération cellulaire coïncident avec le plus grand développement des cordons bactériens et que ces deux phénomènes sont étroitement liés l'un à l'autre. Ce fait deviendra plus évident encore à l'examen des stades plus tardifs, alors que les diverses portions de la tumeur seront plus différenciées.

Limite du tissu inflammatoire et du tissu sain. — L'augmentation de volume du nodule néoplasique commence à altérer les

dispositions normales des éléments médullaires. Cette altération se traduit par deux phénomènes : il se produit en premier lieu un refoulement progressif des éléments périphériques; les grandes cellules de la moelle, les solénocystes, sont peu à peu écartés de leurs positions initiales; au lieu de rester plus ou moins parallèles entre eux, ils s'espacent pour constituer une sorte de fuseau qui enserre le nodule inflammatoire et moule sa surface externe. A mesure que le nodule s'accroît, il atteint de chaque côté les limites normales de la moelle et poursuit sa croissance en faisant saillie sous l'écorce, qu'il refoule devant lui. Au cours de cet envahissement de la moelle, le refoulement des éléments médullaires se poursuit; il se forme ainsi, à la surface de la tumeur, une couche très serrée, constituée par des solénocystes et par de nombreux allélocystes bridant en quelque sorte le nodule inflammatoire.

Les allélocystes provenant des tissus non infectés ont bientôt envahi toute la région laissée libre par l'écartement des solénocystes (région correspondant aux parties effilées du fuseau), et atteignent la surface du nodule inflammatoire. A ce niveau, ils s'étalent, rampent et s'enchevêtrent, constituant un feuillet qui limite à l'extérieur le nodule, à la façon d'une capsule; il nous paraît vraisemblable que la formation de cette dernière n'est pas seulement due au refoulement des éléments périphériques, et que ce tassement cellulaire n'a pas une cause purement mécanique. Il semble qu'une réaction active de la part des allélocystes normaux détermine leur accolement, par une sorte de tactisme, à la surface du nodule. Peut-être ce phénomène est-il dû à une réaction des allélocystes à la compression de la masse néoplasique; mais il est possible aussi que les produits du métabolisme de la tumeur interviennent dans le déterminisme de cette réaction.

Activité des tissus sains à la périphérie du nodule. — Lorsque la tumeur a atteint la limite de la moelle et de l'écorce, elle soulève la couche des cellules corticales internes; les cellules multiclaves s'appliquent alors, à leur tour, à la surface du nodule qu'elles coiffent. En ce point également, les allélocystes manifestent une certaine activité et leur bourgeonnement s'exagère. Certains d'entre eux vont s'appliquer à la surface de la tumeur, d'autres s'insinuent entre les divers éléments profonds de l'écorce en clivant plus ou moins les assises successives des cellules corticales.

Ainsi constituée, la tumeur va poursuivre pendant longtemps sa croissance, pour atteindre vingt ou trente fois l'épaisseur

totale de la lame. Pendant longtemps, tous les tissus qu'elle repousse devant elle, solénocystes, multiclaves, allélocystes, cellules corticales, la limitent en dehors et lui constituent une véritable enveloppe scléreuse.

La tumeur exerce, d'une façon indubitable, une excitation qui se propage aux cellules situées au delà du tissu infecté par les bactéries; cette action à distance se traduit par une prolifération cellulaire modérée des allélocystes et par une hyperplasie des cellules corticales profondes.

Fig. 17. — *Tumeurs plus évoluées que celle de la figure 16.*

Les tissus médullaires participent seuls à la réaction. Les solénocystes, refoulés à la périphérie, sont figurés en noir. L'écorce normale est refoulée et altérée en un point.

(Gross. : quinze fois.)

Nous ne pensons pas que les éléments qui prennent part à la constitution de ces zones de prolifération secondaires proviennent d'une infiltration à distance. Ils sont simplement le résultat d'une multiplication sur place.

Ces foyers locaux se distinguent d'ailleurs de la tumeur proprement dite par une structure beaucoup plus lâche et une abondance plus grande de cœnoglée.

c) La tumeur fait saillie a l'extérieur. — A mesure que la tumeur s'accroît, elle perd sa forme sphérique. Repoussant l'écorce

devant elle, elle fait saillir le méristoderme au-dessus du plan normal du thalle.

L'augmentation de surface due à cet accroissement a pour conséquence d'exciter l'activité proliférante du méristoderme. Ce dernier accroît le nombre de ses cellules; en même temps, il fournit par une série de périclines de nouvelles cellules corticales. La division des cellules méristodermiques paraît prédominer en certains points assez constants. Ce sont tous ceux où le méristoderme dessine une courbe à concavité tournée vers l'extérieur, c'est-à-dire au point d'union du thalle normal et de la portion de méristoderme qui coiffe la tumeur. A ce niveau, les cellules du méristoderme sont souvent divisées par des cloisons récentes. Le nombre des assises corticales sous-jacentes est fortement augmenté. Les cellules sont hautes, étroites, et les cloisons des premières assises se correspondent souvent exactement entre elles, ainsi qu'aux cloisons des cellules méristodermiques. Il nous paraît donc probable qu'il y a en ces points néoformation du tissu cortical, ce qui lui permet de suivre l'accroissement en surface.

Destinée des éléments médullaires. — Les éléments médullaires demeurés sains se comportent autrement. Nous avons montré qu'au stade précédent ces derniers étaient pour la plupart rejetés à la périphérie de la tumeur. Quand celle-ci s'accroît, les solénocystes, assez rigides, ne peuvent exagérer indéfiniment leur courbure. Ils deviennent incapables de suivre le mouvement d'expansion des tissus néoplasiques. La destinée des solénocystes paraît différente suivant les cas. Tantôt ils se détruisent complètement, d'autres fois ils résistent à la pression exercée par les cellules en voie de prolifération : la masse du tissu néoplasique les dépasse alors et continue à croître au delà en s'orientant vers l'écorce. Enfin un certain nombre d'entre eux sont simplement refoulés sur les parties latérales de la tumeur.

TUMEURS ADULTES

Aspect du tissu néoplasique a la périphérie. — Quand le nodule inflammatoire a dépassé la barrière constituée par les grands éléments de la moelle, ces éléments cellulaires s'accroissent beaucoup plus rapidement selon la direction normale au plan du thalle que selon le plan lui-même. On voit, en effet, presque toutes les cellules néoplasiques constituer des files parallèles, ou plus ou moins ondulées, orientées perpendiculairement aux

éléments normaux de la moelle. Dans cette masse sont englobés quelques solénocystes. Au-dessus, quelques cellules corticales internes sont envahies à leur tour. (Voir fig. 17 et planche II.)

Les éléments de la tumeur dépassent en certains points la couche des cellules multiclaves; les unes sont rejetées de côté, les autres sont enveloppées par les éléments pathologiques et finalement englobées à l'intérieur des tissus de la tumeur. Il nous paraît probable que les allélocystes de la couche corticale interne prennent en ce point les caractères des éléments tumoraux sous l'influence de l'infection bactérienne et contribuent à augmenter la masse des tissus néoplasiques. Toutefois, étant donné les difficultés de l'observation, il nous est impossible de l'affirmer. Il se produit en somme, pour certaines cellules corticales, ce qui s'est produit, à un premier stade, pour les solénocystes. La force d'expansion des cellules néoplasiques rompt l'assise corticale, la rejette de côté ou la repousse vers le haut, ou englobe certains autres de ces éléments. La portion périphérique de la tumeur rompt l'écorce en certaines régions: par ces points de moindre résistance, les éléments de la tumeur font hernie sous l'épiderme. La partie externe de la tumeur prend alors cet aspect lobulé que nous avons décrit dans le chapitre précédent. La ligne festonnée qui la limite, du côté de l'épiderme, témoigne de l'inégale activité des tissus de la tumeur en ces divers points.

Certaines portions, constituées par des faisceaux parallèles de cellules, atteignent l'épiderme, après avoir détruit tous les éléments corticaux sur leur trajet. En d'autres points, tous les éléments de la couche corticale sont encore visibles; les cellules qui les constituent présentent des degrés variables d'hypertrophie et d'hyperplasie.

Disparition de l'épiderme. — La croissance des tissus pathologiques se poursuit, les dernières couches cellulaires normales qui les limitaient du milieu extérieur se détruisent par place, et les éléments de la tumeur se trouvent en contact avec l'eau de mer.

Libre de s'épanouir sans aucune gêne, la tumeur prend de plus en plus la forme en chou-fleur que nous signalions dans le précédent chapitre : les faisceaux de cellules néoplasiques s'éversent en dehors, présentant grossièrement une disposition en éventail dont la limite supérieure est fortement mamelonnée.

Le méristoderme et l'écorce, qui ne subsistent plus que par lambeaux à cette limite supérieure, continuent même à aug-

menter le nombre de leurs éléments sur les parties latérales et basales de la tumeur.

Les parties les plus internes de l'écorce en contact avec les cellules de la tumeur présentent des phénomènes d'hyperplasie et de multiplication nucléaire.

Une fois la tumeur parvenue à ce stade final, les cellules présentent des caractères différents selon les relations qu'elles affectent avec les éléments du voisinage. A ce point de vue, on peut grouper ces cellules sous trois types différents :

1° Les cellules de la partie supérieure de la tumeur, souvent en contact avec le milieu extérieur;

2° Les éléments de la tumeur en contact avec les cellules corticales internes et les éléments médullaires; ces cellules étant situées, par conséquent, sur les parties latérales et basales de la tumeur;

3° Et enfin les cellules pathologiques du centre de la tumeur qui conservent des caractères semblables aux éléments correspondants du stade antérieur décrit ci-dessus.

1. Eléments néoplasiques de la partie supérieure de la tumeur. — Toute la partie périphérique de la tumeur constitue une région de croissance active, mais la croissance est plus intense dans cette partie supérieure. Les cellules sont rangées en files, elles-mêmes disposées en éventail. Ces files, assez reconnaissables, même sur coupes, bourgeonnent activement; les noyaux sont nombreux, souvent très gros, groupés quelquefois en nids, par cinq ou six. Le protoplasme, très dense, possède des petits plastes, assez nombreux, et souvent quelques plastes plus gros, groupés au voisinage des noyaux. De très nombreuses gouttelettes de composés phénoliques siègent dans les cellules. Certaines en sont complètement bourrées.

Les cordons bactériens sont également très gros, enserrant toutes les cellules de leurs réseaux.

Au moment où l'épiderme disparaît, les premières couches cellulaires sont altérées. Elles deviennent un milieu de culture pour diverses bactéries du dehors. Les bactéries saprophytes ne pénètrent d'ailleurs jamais très loin dans le tissu de la tumeur et n'arrêtent pas sa prolifération.

Ces infections secondaires détruisent simplement les assises superficielles de la tumeur ; celles-ci sont constamment remplacées par la prolifération des couches sous-jacentes. D'autres parasites ou commensaux s'observent en grand nombre dans

cette couche périphérique altérée : ainsi un Nématode, qui nous semble être une espèce déjà décrite sur diverses algues brunes, Tylenchus fuscicollis. Ce Nématode creuse dans le tissu de petites loges sphériques, et peut pénétrer profondément dans la tumeur. Il s'attaque d'ailleurs également au tissu sain du Saccorhiza bulbosa, où il provoque la formation d'un tissu inflammatoire.

On trouve également des larves de Copépodes, non déterminées, qui provoquent également de petites excavations. Ces larves existent aussi dans le tissu normal de l'algue ou dans les régions préalablement érodées et y forment de petites galles.

On constate très souvent la présence de ces divers commensaux. Il nous est difficile de préciser le rôle qu'ils remplissent relativement à la genèse de la tumeur. Peut-être ce rôle est-il secondaire ; peut-être aussi ces commensaux ne sont-ils pas étrangers à l'inoculation de la bactérie pathogène. Comme la présence de ces parasites dans l'épaisseur de tissus encore sains peut être fréquemment constatée, l'hypothèse qui consiste à leur attribuer un rôle dans l'infection de la plante nous semble ne pas devoir être rejetée *a priori*. On ne peut s'empêcher de comparer leur présence à celle que l'on constate chez diverses tumeurs animales, où différentes espèces commensales (Nématode, Demodex, etc.) ont pu être mises en cause dans la genèse de la tumeur. Ce point de vue se trouve renforcé par le fait que la présence du même Nématode a été signalée dans les galles de l'Ascophyllum nodosum.

2. Eléments de la tumeur en rapport avec les cellules corticales internes et les éléments médullaires sains. — Ces éléments appartiennent à la région de la néoplasie qui correspond aux parties latérales de la tumeur et à son insertion sur le thalle. La croissance des tissus de la tumeur y est donc entravée par la barrière des tissus normaux qui l'entourent. Or, cette zone est toujours caractérisée par l'hyperplasie et l'hypertrophie des cellules qui la constituent.

On voit, en effet, que les cellules de la tumeur acquièrent des dimensions inusitées : leur longueur et leur diamètre deviennent très supérieurs à ceux des cellules de la partie distale de la néoplasie. Cet accroissement de volume va de pair avec une augmentation considérable de la masse protoplasmique et du nombre des noyaux. Toutes les cellules de la tumeur ne présentent pas ces phénomènes d'hyperplasie et certaines de ces cellules restent

de petite taille. D'autre part, les cellules corticales profondes, en contact avec les précédentes, présentent les mêmes phénomènes, quoique d'une façon plus modérée.

Il se constitue ainsi une zone formée en dehors par les cellules corticales internes augmentées de volume et hyperplasiées en dedans par des cellules néoplasiques dont beaucoup sont hypertrophiées et possèdent un nombre énorme de noyaux. Entre les éléments tumoraux sont les cordons bactériens formant de vastes plages plus étendues que partout ailleurs.

Il se constitue de la sorte dans les tumeurs âgées une zone de cellules géantes plongées au milieu d'amas bactériens et dont la genèse semble liée à un certain nombre de conditions qui sont les suivantes :

a) Ces éléments n'existent guère dans les tumeurs jeunes ou dans les tumeurs à croissance rapide ; leur présence semble donc liée à un ralentissement de la division cellulaire ;

b) Là où ces cellules géantes existent, le tissu cortical ou médullaire est toujours présent ; là où ces derniers tissus n'existent plus, on ne voit plus se former de cellules géantes ; là où ces tissus ne persistent plus que partiellement, c'est au contact de leurs lambeaux que se constitue encore ce type spécial de plasmodia inflammatoire.

En résumé, quel que soit le mode d'inoculation de la bactérie pathogène, les tissus de la plante ne semblent réagir à l'infection qu'à partir du moment où celle-ci a dépassé la couche corticale et a touché la région médullaire ; c'est dans cette région, en effet, que se trouvent localisés les allélocystes qui, dans la genèse de la tumeur, représentent par excellence les éléments de la réaction inflammatoire.

A partir du moment où les bactéries sont parvenues dans cette région, il se produit à leur contact une multiplication très active des allélocystes ; de la sorte, il ne tarde pas à se constituer un peloton cellulo-bactérien formé par un enchevêtrement des allélocystes en voie de prolifération dans les mailles duquel sont contenus les amas bactériens. Cette tumeur initiale s'accroît rapidement, les éléments en voie de multiplication rapide étant ceux de la périphérie. Cette multiplication est visiblement liée au contact immédiat des bactéries. Les amas ou cordons bactériens sont nettement disposés dans les assises périphériques et se montrent très rares au centre de la tumeur, dont les cellules ont repris un certain état d'inertie.

Ce processus s'observe à tous les moments de la croissance

de la tumeur ; celle-ci ne tarde pas à refouler devant elle les tissus corticaux qui, par leurs éléments les plus profonds, constituent une véritable capsule à la tumeur en voie de développement. Tandis que les éléments de la tumeur les plus rapprochés du méristoderme montrent une activité proliférante qui va en s'intensifiant, les éléments les plus rapprochés de la moelle modifient leur mode de croissance et donnent naissance à un nombre de plus en plus grand de cellules géantes multinucléées. De même que pour les cellules en voie de division rapide, ces plasmodia profonds se forment au contact immédiat des bactéries, qui constituent autour d'elles de vastes plages.

Telle est, en résumé, l'évolution de ces tumeurs. Les allélocystes y jouent le rôle principal, soit sous forme de cellules jeunes en voie de prolifération, soit sous forme de cellules géantes, l'ensemble du processus cellulaire étant déterminé par l'action bactérienne.

Notons ici que les bactéries restent toujours cantonnées à l'extérieur des cellules et n'y pénètrent qu'accidentellement, à la faveur de nécroses partielles. D'autre part, au sein des amas bactériens situés dans le voisinage immédiat de la cellule géante, il s'opère une destruction de microbes révélée par la perte de l'affinité colorante de ces micro-organismes. Peut-être pourrait-on en déduire une action bactéricide de ces cellules géantes, qui de la sorte constitueraient de véritables éléments de défense.

STRUCTURE MICROSCOPIQUE DES AUTRES TYPES DE TUMEURS DU SACCORHIZA BULBOSA

Nous avons signalé au chapitre III l'existence de tumeurs dont le mode de croissance diffère du mode de développement le plus général que nous avons décrit en premier lieu.

I. — La croissance de l'un de ces types peut toutefois se ramener aisément au cas général.

C'est le type des tumeurs de la fronde développées primitivement sur les deux faces du thalle. Le foyer d'origine de la néoplasie est alors situé dans le plan de symétrie de la fronde, au centre même de la moelle. Au cours de leur prolifération, les allélocystes qui constituent la néoplasie s'orientent bientôt dans une direction perpendiculaire au plan de la fronde : ils constituent ainsi de longues files parallèles dont la croissance rapide refoule les tissus corticaux limitant les deux faces opposées

du thalle. La suite de l'évolution est en tous points comparable à celle décrite dans le type général.

L'origine de cette croissance symétrique paraît manifestement due à l'égale résistance des tissus médullaires limitant de part et d'autre le nodule inflammatoire. Dans le cas le plus fréquent, au contraire, c'est la situation asymétrique du foyer d'origine par rapport à la moelle qui a pour conséquence d'orienter le développement de la tumeur du côté où le tissu sain offre le minimum de résistance mécanique.

II. — Rappelons ici également l'existence de tumeurs très étalées et de faible épaisseur, que nous avons nommées *tumeurs en nappe*. L'examen microscopique montre que ces tumeurs ne débutent pas, à leur origine, en un foyer très limité, mais occupent dès leur apparition une large surface. Il en résulte que les allélocystes ne prolifèrent pas suivant des directions rayonnantes : dans ce cas, tous les éléments cellulaires se dressent perpendiculairement aux éléments de la moelle en formant des faisceaux parallèles.

PROLIFÉRATION DE L'ÉCORCE CHEZ LES VIEILLES TUMEURS

La disparition de l'écorce est presque de règle à la surface des tumeurs âgées. Il est des cas cependant où l'écorce persiste jusqu'à la fin de l'évolution de la tumeur et la mort de l'algue et conserve alors le plus souvent son aspect normal. Plus rarement, on peut voir sur les algues recueillies à la fin de l'été ou en automne des tumeurs portant à leur surface des expansions effilées, longues de plusieurs centimètres et très étroites. Leur forme est le plus souvent cylindrique, mais elles constituent quelquefois une lame irrégulièrement aplatie. Ces expansions s'orientent dans des directions variées : tantôt elles se dressent perpendiculairement au plan du thalle, tantôt leur extrémité libre s'infléchit et s'applique parfois à la surface de l'algue. Elle y adhère assez fortement et se comporte à la manière des haptères du Sacchoriza.

Ces curieuses formations s'observent, comme nous l'avons signalé, sur des tumeurs âgées, mais donnant encore des signes d'activité proliférante. L'étude des coupes montre que ces expansions corticales s'implantent à la partie supérieure de la tumeur. A ce niveau partent, de la surface du tissu néoplasique, un ou plusieurs prolongements qui occupent la base de ces for-

mations corticales. Le tissu infecté par la bactérie pathogène ne pénètre jamais dans ces expansions, et, au delà de leur base, celles-ci sont exclusivement constituées par des cellules corticales.

L'action de la néoplasie se traduit donc ici par une excitation de la croissance de l'écorce ; celle-ci ne présente aucun caractère pathologique, mais reprend, sous l'influence du tissu néoplasique situé à sa base, les caractères de croissance d'un tissu jeune.

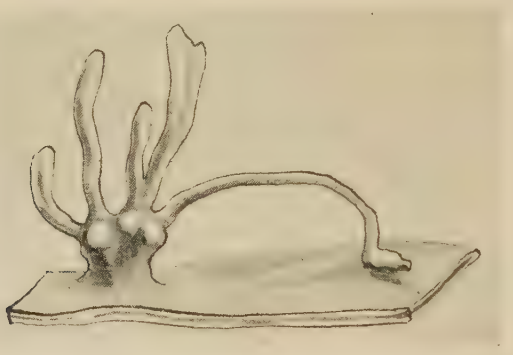


Fig. 18. — *Prolifération de l'écorce chez les vieilles tumeurs.* L'une des expansions est allée s'appliquer sur le thalle sain.

L'action exaltatrice de la néoplasie sur la croissance d'un tissu sain rappelle, dans une certaine mesure, le rôle que joue l'infection bactérienne chez le résineux, dans la production de certains « balais de sorcière ».

CHAPITRE V

MODE DE PROPAGATION DE L'INFECTION DANS LE THALLE

Nous avons décrit au chapitre III ces formations particulières consistant en chapelets de tumeurs disposées en files linéaires et dont le volume va en décroissant régulièrement d'un bout à l'autre de la file. Le siège le plus fréquent de ces chapelets est la fronde de l'algue ; quant à leur orientation, elle suit exacte-

ment le faisceau des lignes qui joignent la zone stipo-frondale à la périphérie de la lame ; cette orientation est également celle des grands solénocystes provenant du stipe et coïncide avec le sens de plus grande croissance de la fronde. Le rapport, que l'on constate d'une façon absolument constante, entre l'orientation des chapelets et la direction suivie par certains éléments anatomiques du thalle, donne à penser qu'il doit y avoir là, entre l'une et l'autre, une relation de causalité rigoureusement déterminée.

Un autre caractère important de ces formations est relatif à la différence d'âge que présentent les tumeurs constituant les éléments d'une même file, la plus âgée étant située à l'une des extrémités, la plus jeune occupant l'extrémité opposée. Il semble hors de doute que ces tumeurs sont nées successivement les unes des autres et qu'elles dérivent du plus volumineux de ces éléments, qui a été le point de départ de l'infection, ayant donné naissance successivement à tout le chapelet des tumeurs-filles.

L'on ne peut s'empêcher de comparer ces néoformations du thalle aux métastases que l'on connaît dans les cancers animaux ou les tumeurs infectieuses décrites chez les Phanérogames.

Examinons des coupes intéressant les diverses tumeurs d'une même file ; nous constaterons tout d'abord que la structure de chacune d'elles est en tous points semblable à celle que nous avons décrite dans le chapitre III. Un fait digne de remarque est que toutes ces tumeurs sont développées sur la même face de la fronde et que chacune d'elles conserve encore, à sa base, les reliquats de la moelle normale qui leur a donné naissance.

Chacune de ces tumeurs-filles est reliée à sa voisine par une portion de thalle d'aspect absolument normal.

Si chacune des tumeurs-filles représente une réaction des tissus vis-à-vis d'une infection issue de la tumeur voisine et se propageant dans le thalle, on doit trouver, en examinant les tissus situés dans l'intervalle de deux tumeurs consécutives, quelques traces de la propagation de l'infection bactérienne, soit sous forme de bactéries décelables au microscope, soit sous forme de reliquats inflammatoires indiquant une infection ancienne actuellement disparue.

Or, il est tout à fait curieux de constater qu'on ne retrouve en général rien de semblable si l'on s'adresse à des chapelets de tumeurs âgées. Tout au plus constate-t-on dans l'intervalle de deux tumeurs-filles une légère augmentation des allélocystes de la région médullaire ; cette prolifération pourrait d'ailleurs s'interpréter comme une conséquence de l'action à distance exercée

par les tumeurs du voisinage. Quant à la présence de cordons bactériens ou même de bactéries isolées, il est impossible d'en observer.

Il en est tout autrement lorsque l'on étudie des chapelets de tumeurs très jeunes ; ici les résultats sont des plus nets et confirment l'hypothèse énoncée plus haut que ces files de tumeurs sont le produit d'une infection qui chemine dans la région médullaire du thalle. Nous avons pu parvenir à cette conclusion en observant des chapelets de tumeurs qui n'avaient pas encore dépassé le stade intramédullaire et qui se sont montrées tout à fait favorables à cette étude. (Voir pl. I, fig. 2, et pl. I, fig. 1.)

Il est une région du chapelet qui se prête tout particulièrement à une étude de ce genre; cette région est située dans le prolongement linéaire de la file au delà des plus petites tumeurs-filles visibles à l'œil nu. En effet, à ce niveau l'on constate l'existence, décelable au microscope seulement, de tout petits nodules inflammatoires dont les plus exigus se présentent à un stade tout à fait jeune et ne sont constitués que par un nombre très limité de cellules. C'est là que l'on peut saisir avec toute la netteté désirable le processus infectieux qui conduit à la formation des tumeurs métastatiques.

La structure de ces petits foyers de réactions inflammatoires est identique au tout premier stade que nous avons décrit antérieurement. Ces minuscules foyers intramédullaires sont séparés les uns des autres par des espaces peu étendus, variant de quelques centaines de μ à 2 ou 3 millimètres. Dans ces intervalles, la moelle présente un aspect très particulier. Les cellules qui la constituent sont plus serrées et plus nombreuses que celles d'un tissu médullaire normal ; il s'agit ici encore d'une prolifération modérée des allélocystes qui donnent des signes manifestes d'activité : hyperplasie, multiplication cellulaire et bourgeonnement. Mais ces processus sont extrêmement discrets et il faut un examen attentif pour les déceler.

A ce niveau, l'observation des membranes cellulaires montre l'existence de bactéries logées dans les méats intercellulaires. Cette infection bactérienne est à la vérité discrète; le nombre des micro-organismes est faible; jamais on n'observe ces cordons bactériens massifs qui sont la caractéristique des zones d'accroissement rapide. Les bactéries se trouvent souvent isolées les unes des autres ou bien sont disposées en files continues composées d'une seule rangée de germes. A leur contact, les cellules donnent

les signes d'une prolifération qui n'est cependant jamais assez intense pour produire de véritables foyers inflammatoires.

De la sorte, il est possible de suivre le cheminement des bactéries tout le long de la moelle, d'un foyer inflammatoire au foyer suivant. Bien plus, on peut constater que cette infiltration bactérienne se prolonge au delà du dernier noyau inflammatoire qui termine la file des tumeurs. En présence de ces faits, la conclusion n'est pas douteuse : le premier stade du processus pathologique consiste en un envahissement assez discret du tissu sain par l'agent infectieux. Cette progression se fait le long des solénocystes qui déterminent ainsi l'orientation du chapelet; on constate en même temps, tout le long du trajet suivi par l'infection bactérienne, l'hyperplasie accompagnée d'une légère prolifération des allélocystes rencontrés en chemin.

La formation des foyers inflammatoires est la conséquence directe de ce processus infectieux. Le déterminisme de cette formation est encore assez obscur : la formation du foyer réactionnel est-elle provoquée en certains points par une multiplication particulièrement abondante, à ce même niveau, de l'agent infectieux ? S'agit-il de l'acquisition par les cellules de l'algue de certaines propriétés physiologiques nouvelles dues au contact avec la bactérie pathogène ? Nous ne pouvons faire à ce sujet que des hypothèses.

Quel que soit le mécanisme de la production de ces foyers réactionnels, il n'est pas douteux que leur apparition a pour conséquence d'arrêter l'envahissement diffus des tissus par l'agent pathogène et de localiser ce dernier en un petit nombre de foyers bien délimités. A ce point de vue, l'on doit considérer la formation des tumeurs comme un processus défensif très comparable à certains nodules inflammatoires que l'on observe chez les animaux.

Comme on le voit, il est facile de mettre en évidence dans l'intervalle qui sépare les foyers inflammatoires la présence des bactéries pathogènes; il devient, au contraire, impossible de les déceler lorsqu'il s'agit de l'intervalle qui sépare des tumeurs plus âgées. On peut dès lors se demander quelle est la destinée de ces bactéries : il est évident qu'à un certain moment du processus infectieux elles sont détruites et disparaissent. De plus, cette disparition doit être extrêmement rapide si l'on considère que ces microbes ne se retrouvent plus sitôt que les nodules ont dépassé des dimensions purement microscopiques.

De tout ce qui précède, on voit que si nous tâchons d'inter-

prêter l'origine des tumeurs en chapelets et d'expliquer les motifs de leur disposition linéaire, il semble qu'il faille faire intervenir deux facteurs distincts : le premier est l'infection bactérienne elle-même se propageant le long des solénocystes, déterminant de place en place la formation de nodules inflammatoires dont chacun marque un temps d'arrêt dans cette propagation. A ce point de vue, ces tumeurs méritent bien le nom de tumeurs métastatiques au sens que l'on attache à ce terme dans certaines infections chroniques chez les animaux (par exemple les nodules tuberculeux métastatiques disséminés autour du foyer de nécrose).

Le second facteur qui intervient dans la genèse des chapelets est l'élongation de la file tout entière par suite de l'accroissement propre du thalle; c'est là, il est vrai, au point de vue étiologique, un phénomène secondaire, et dont le rôle consiste surtout à déterminer chez ces néoplasies, nées les unes des autres, leur orientation caractéristique.

CHAPITRE VI

DE LA BACTÉRIE PATHOGÈNE DES TUMEURS D'ALGUES

Nous avons vu dans les chapitres précédents que les tumeurs développées à la surface du Saccorhiza bulbosa et du Chondrus crispus sont parasitées d'une façon absolument constante par une bactérie — la même pour ces deux espèces — et qui s'y trouve en culture pure tant que persiste l'intégrité de l'écorce.

L'étude du développement des tumeurs que nous avons faite dans un chapitre précédent montre, à n'en pas douter, que cette bactérie représente bien l'agent pathogène qui provoque l'apparition de la néoplasie.

Dans les tumeurs jeunes, ce micro-organisme est également distribué dans toute la masse du tissu. A mesure que la tumeur vieillit, les bactéries tendent de plus en plus à se localiser à la périphérie (qui représente, comme on le sait, la zone de croissance de la tumeur). Elles tendent, au contraire, à disparaître de la zone centrale, où elles n'existent plus finalement que sous forme de très rares individus isolés.

Rappelons ici que l'étude des coupes nous révèle les faits sui-

vants relativement aux rapports qu'affecte la bactérie avec les éléments cellulaires de la tumeur : elle est constamment située à l'extérieur des cellules, mais à leur contact immédiat; le développement des micro-organismes débute dans l'épaisseur des membranes cellulaires, au niveau de la lamelle moyenne. Sous l'influence des ferments hydrolysants sécrétés par la bactérie, la membrane ne tarde pas à se gélifier ; il se forme de la sorte des espaces lacunaires provenant de la fonte des membranes, où les bactéries se multiplient facilement en constituant des plages étendues.

En ces divers points, les bactéries se présentent sous forme de petits bâtonnets d'une longueur moyenne de 2 μ, présentant souvent, lorsqu'on les colore par les bleus basiques, une coloration bipolaire.

Elles sont généralement groupées en amas ; lorsque l'on a affaire à des bactéries isolées, l'on distingue nettement autour de chacune d'elle un petit halo clair, provenant très probablement de l'épaississement de la membrane bactérienne et constituant de la sorte de véritables capsules que, par analogie avec ce que l'on constate dans d'autres infections bactériennes connues, l'on doit interpréter comme une réaction de défense. Ce dernier point de vue trouve une confirmation dans le fait que ces formations péribactériennes s'observent avec une netteté et une constance particulières dans les traînées microbiennes aboutissant aux tumeurs métastatiques : sans doute cet encapsulement correspond-il à une exaltation de la virulence.

Notons également qu'au sein des amas bactériens dispersés dans la tumeur, l'on trouve à côté de bactéries prenant énergiquement la couleur, d'autres dont les affinités colorantes vont en s'atténuant, au point de disparaître et de se réduire à l'état d'ombres bactériennes : c'est là l'expression visible de l'action bactéricide qu'exercent sur les micro-organismes les humeurs de la plante et contre laquelle la bactérie à son tour réagit en s'encapsulant.

Isolement et culture de la bactérie. — Nous avons réussi à isoler cette bactérie à l'état de culture pure en nous servant des deux milieux suivants que nous avons adoptés après de nombreux tâtonnements. Ces milieux se préparent comme suit:

Milieu 1. — On fragmente aussi vivement que possible des thalles jeunes de Saccorhiza bulbosa : 250 grammes de l'algue

broyée sont additionnés de 500 grammes d'eau de mer. On chauffe ce mélange pendant deux heures à une température un peu inférieure à 100°. Pendant tout le temps que dure cette opération, on remplace l'eau évaporée par l'addition d'eau distillée, maintenant ainsi constant le volume de la masse. Au bout de ce temps, on cesse de chauffer et on laisse la macération se poursuivre pendant quatre à cinq heures à la température du laboratoire. Un volume donné de cette macération est additionné d'un égal volume de gélose à l'eau à 4 % sans peptone, ce qui donne finalement un milieu gélosé à 2 %. A ce moment, on ajuste le milieu à un pH compris entre 7 et 7,5, la réaction devenant légèrement plus acide au cours de la stérilisation à l'autoclave, le pH final devant être compris entre 6,5 et 7.

On répartit en tubes, on stérilise pendant quinze minutes à l'autoclave à 115° et l'on incline les tubes.

Milieu 2. — Le second milieu de culture, qui nous a donné des résultats presque aussi bons que le premier, se prépare comme suit :

A 100 centimètres cubes de gélose de Sabouraud, on ajoute 150 centimètres cubes de gélose à l'eau à 4 % et 150 centimètres cubes d'eau de mer concentrée par évaporation à la moitié de son volume primitif. On obtient ainsi 400 centimètres cubes de milieu auquel on ajoute 2 % de peptone Chapoteaut. On ajuste à un pH compris entre 7 et 7,5; on répartit en tubes, on stérilise à l'autoclave et l'on incline.

Tels sont les deux milieux qui, de tous ceux que nous avons essayés, nous ont donné les meilleurs résultats, aussi bien pour l'isolement que pour la culture de notre bactérie.

Nous pratiquions l'isolement de la manière suivante: on choisit une tumeur intacte, non ulcérée, dont on lave rapidement la surface à l'alcool à 70, ou mieux encore à l'eau oxygénée ; au moyen d'une lame de rasoir stérile, l'on décapite la tumeur; puis, à l'aide d'une aiguille flambée, l'on recueille sur la surface de section de minuscules fragments prélevés au milieu de la zone inflammatoire, parfaitement visible à l'œil nu. On ensemence ces fragments sur l'un des deux milieux signalés plus haut et l'on laisse les cultures se faire à la température du laboratoire.

Notons ici que l'isolement se fait avec infiniment plus de facilité lorsque l'ensemencement se pratique avec des fragments très petits de tissu; il reste nul lorsque l'on ensemence des blocs plus volumineux de la tumeur, bien que ces derniers abondent en bac-

téries vivantes. Ce fait semble indiquer qu'il existe dans la masse des tissus en voie de prolifération quelque substance antagoniste qui gêne le développement de la bactérie.

Les premiers ensemencements se développent assez lentement et ce n'est qu'au bout de trois jours que l'on voit apparaître ça et là, à la surface du milieu solide, de petites colonies blanchâtres, surélevées au centre, à bords lisses au début, festonnés à mesure que la colonie avance en âge. Ces colonies sont assez adhérentes au substratum ; elles se détachent assez facilement et s'émulsionnent médiocrement dans l'eau de mer. Les repiquages ultérieurs se font plus vite, et l'on peut voir dans ce cas les colonies se former dès la trente-sixième heure.

Lorsque la surface entière du milieu est couverte, la culture se présente sous un aspect uniforme, lisse, blanchâtre, assez opaque. Ces cultures doivent être repiquées chaque semaine ; cependant, au bout d'un mois, on peut encore rencontrer des individus vivants capables d'être réensemencés. Mais, d'une façon générale, il faut admettre que la vitalité des colonies ne dépasse guère cinq semaines.

La culture se fait mal et très maigrement à l'étuve à 37°.

Caractères de la bactérie. — Le micro-organisme obtenu de la sorte en culture pure est, comme nous l'avons dit plus haut, une courte bactérie, à extrémités légèrement arrondies, à coloration bipolaire, se décolorant par la méthode de Gram. Il est immobile, ne donne pas de spores; la culture, complètement développée, a une odeur légère évoquant, mais très discrètement, celle des cultures de colibacilles.

Dans les cultures vieilles de quinze jours à trois semaines, les bactéries, dont la membrane est invisible au début du développement, apparaissent comme nettement entourées d'une capsule ovalaire, épaisse, colorable en lilas clair par la thyonine phéniquée. Au cours de leur multiplication, les bactéries restent souvent accouplées en diplos, mais ne forment jamais de chaînettes.

Ce micro-organisme pousse à peine et très maigrement sur gélose nutritive ordinaire. Il ne cultive ni sur gélatine peptonée, ni sur gélatine à l'eau de mer, ni sur bouillon ordinaire, ni sur le lait, ni sur le milieu synthétique de Magrou. Il se développe mal sur le milieu de Sabouraud non modifié. En milieu anaérobie de Veillon, il donne quelques colonies strictement limitées à la portion supérieure du tube.

Ensemencé sur notre milieu (n° 1) non gélosé, il pousse en

CULTURES SUR MILIEUX GÉLOSÉS SUCRÉS

SUCRES	Séries	VIRAGE VERS L'ACIDITÉ — 1 jour	2 jours	3 jours	4 jours	5 jours	6 jours	7 jours	8 jours	9 jours	14 jours
Témoin (Tournesol non sucré)	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Glucose $C^6\ H^2O^6)^6{}_D$	A	±	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	B	±	+	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Lévulose $C^6(H^2O^6)^6{}_L$	A	0	0	0	0	0	±	±	+ Déc.	++ Déc.	± Déc.
	B	0	0	0	0	±	+	±	±	+	±
Maltose $C^6(H^2O)^{11}{}_D$	A	-	+	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
	B	±	+	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
Lactose $C^{12}(H^2O)^{11}{}_D$	A	+ Déc.	+ Déc.	+ Déc.	++ Déc.	++ Déc.	+++ Déc.	+++ Déc.	C en haut + Déc. en bas		C en haut Déc. en bas
	B	+ Déc.	+ Déc.	+ Déc.	++ Déc.	+ Déc.	+++ Déc.	+++ Déc.	+ Déc.	± Déc.	
Galactose $C^6(H^2O)^6{}_D$	A	+	++ Déc.	+++ Déc.	+++ Déc.	+++ Déc.	+++ Déc	++ Déc.	C en haut Déc. en bas		
	B	+	++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	+++	+++
Saccharose $C^{12}(H^2O)^{11}{}_D$	A	±	+	+-	+++	+++	+++++	++ Déc.	++++++ Déc. en bas		++++++
	B	+	+	+++	+++	+++	++++	++++++	++++++	++++++	++++++
Mannite $C^6(H^2O)^5$	A	0	±	+	+	++	++	+	± C	± C	± C
	B	0	±	+	+	++	++	+	±	±	+
Arabinose $C^5(H^2O^5)$	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

C = Caméléonage ; *Déc.* = Décoloration.

donnant dans la colonne liquide un très léger trouble et en formant un petit voile qui ne tarde pas à tomber au fond.

D'une façon générale, le pH le plus favorable est situé à la limite inférieure de la neutralité, entre pH 6,5 et pH 7, c'est-à-dire à un pH plus voisin de celui des tissus de l'algue que de celui de l'eau de mer.

Action des bactéries sur la fermentation des sucres. — Nous avons étudié l'action fermentative de notre bactérie sur les sucres suivants : glucose, lévulose, maltose, lactose, galactose, saccharose, mannite et arabinose. Pour chacun de ces sucres, nous présentons ici deux séries complètes d'observations désignées par les lettres *A* et *B*. Le milieu qui a servi à ces expériences est notre milieu n° 2, préalablement tournesolé, et où le glucose du milieu de Sabouraud a été remplacé par la série des sucres cités plus haut.

Comme on le voit d'après le tableau précédent, notre bactérie possède un pouvoir ferment très énergique vis-à-vis du glucose, du maltose et du saccharose. Ce pouvoir existe, mais à un moindre degré, vis-à-vis du galactose. La bactérie fermente faiblement le lactose et la mannite, très faiblement le levulose et a une action complètement nulle sur l'arabinose.

On voit également que, pour chacun des sucres considérés, les deux séries *A* et *B* ont fourni des résultats complètement comparables entre eux.

Pendant les deux semaines qu'a duré l'expérience, les séries témoins ensemencées sur gélose tournesolée non sucrée n'ont présenté presque aucune variation dans la couleur : à peine un léger virage dans le sens de l'alcalinité.

Vers la fin de l'expérience (du huitième au quatorzième jour), les cultures sur gélose lactosée, galactosée et mannitée ont présenté le phénomène du caméléonage. Notre bactérie a également présenté un fort pouvoir réducteur vis-à-vis des milieux lactosés et galactosés, se traduisant par une décoloration progressive du milieu.

CHAPITRE VII

STRUCTURE CYTOLOGIQUE DES CELLULES DE LA TUMEUR

Nous étudierons dans les pages qui vont suivre la structure cytoplasmique des cellules qui constituent la tumeur; nous indiquerons également quelles sont les modifications apportées aux cellules du tissu non infecté par le voisinage du foyer inflammatoire.

Pour comparer utilement l'aspect des cellules néoplasiques à celui des éléments normaux, nous indiquerons en premier lieu les caractères de ces derniers.

I. — Structure des cellules normales.

a) Méristoderme. — Ce sont toujours des cellules à un seul noyau, caractérisées par de grands phéoplastes assimilateurs. Le noyau, rond ou ovalaire, renferme un seul nucléole.

Presque tout le cytoplasme se réduit à trois ou quatre grands plastes, de forme plus ou moins rectangulaire, à bords arrondis ovalaires, situés à la périphérie. Les phéoplastes sont reliés par une petite masse de cytoplasme qui contient quelques rares grains de fucosane et un petit nombre de petits grains ayant les propriétés tinctoriales caractéristiques des mitochondries. Une vacuole assez grande occupe le centre de la cellule.

b) Ecorce. — 1° *Cellules de la région superficielle.* — Ces cellules ont des dimensions d'autant plus grandes qu'elles sont plus profondes. Elles sont généralement plurinucléées, mais le nombre des noyaux est peu élevé, en moyenne de deux à quatre; leur diamètre est généralement inférieur à celui du noyau des cellules méristodermiques.

Le cytoplasme de la cellule occupe la partie périphérique et

forme une couche mince limitant une vaste vacuole centrale. Cette étroite couche protoplasmique contient les phéoplastes, assez nombreux, dont les dimensions sont un peu inférieures à celles des plastes méristodermiques. Quelques grains fuchsinophiles représentent les mitochondries. Les grains de fucosane sont peu abondants et répartis par petits groupes dans le cytoplasme.

2° *Couche corticale interne.* — Les cellules de la couche corticale interne sont de très grands éléments, ateignant 1 à 2 millimètres de long chez la plante adulte et 40 à 50 μ de large. Le protoplasme, abondant, est creusé dans toute la partie centrale par une vaste vacuole allongée dans le sens de l'axe. Le cytoplasme contient un nombre élevé de noyaux ovales, dix ou vingt en moyenne.

Les plastes, nombreux et beaucoup plus petits que ceux de la couche corticale superficielle, sont ovales. Leur taille varie sensiblement : les uns sont presque aussi petits que les mitochondries, d'autres atteignent le tiers du diamètre nucléaire, mais jamais on ne voit de gros plastes semblables à ceux des assises assimilatrices superficielles. Quelques grains plus petits encore présentent les réactions caractéristiques du chondriome et doivent être interprétés comme des mitochondries granuleuses.

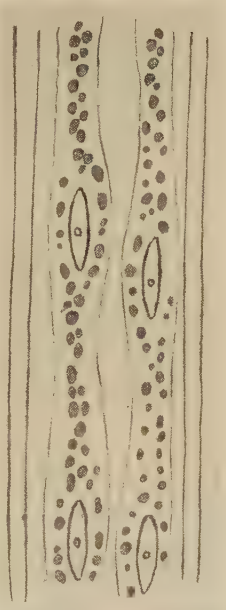


Fig. 19.
Solénocystes de la cellule normale.

Dans le cytoplasme, on voit plusieurs noyaux fusiformes et des plastes petits et très nombreux ; au centre, une grande vacuole, occupant l'axe de la cellule.

(Gross. : 600.)

Dans le cytoplasme existent, outre la grande vacuole centrale, un nombre élevé de vacuoles petites qui portent sur leurs bords quelques grains de fucosane ; d'autres grains de fucosane existent au sein du cytoplasme et paraissent être indépendants de la présence des vacuoles.

c) Moelle. — *Solénocystes.* — Ces éléments sont reconnaissables à l'épaisseur de leur membrane et à leur très grande longueur. Ils présentent en général un cytoplasme qui remplit

presque toute la cavité cellulaire. Ce cytoplasme est dépourvu de ses grandes vacuoles, qui sont constantes dans les éléments décrits précédemment. Les noyaux sont nombreux, mais il est bien difficile de se faire une idée de leur nombre exact, vu l'extrême longueur de ces cellules. Ils sont beaucoup plus allongés que ceux des autres éléments de l'algue et possèdent un aspect fusiforme assez caractéristique.

Plastes. — Les plastes sont nombreux et répartis assez également dans le cytoplasme, ils sont de forme ovale, discoïde et de très petites dimensions. Certains même se rapprochent de la taille des mitochondries, dont il nous paraît difficile de les distinguer. Le chondriome, formé de grains, ressemble à celui des autres éléments décrits. Les grains de fucosane, petits et assez peu abondants, se localisent dans le cytoplasme ou sur les bords des petites vacuoles.

d) Allélocystes. — Ces éléments sont très variables de taille et de forme, et il est impossible de fixer une règle générale à leur sujet. Ces cellules se divisant et croissant rapidement, les aspects qu'on observe correspondent à des stades variés de l'évolution cellulaire ; il en résulte que la masse du cytoplasme, le nombre des noyaux, l'abondance et les dimensions des plastes, varient d'une cellule à l'autre. Les noyaux, assez gros, sont de forme ovale ; ils présentent quelques masses chromatiques appliquées contre la paroi cellulaire et un nucléole assez gros. En moyenne, les cellules en contiennent trois ou quatre, mais leur nombre peut être supérieur, ou se réduire à un. Quand l'élément bourgeonne, la membrane forme une hernie où s'engage une faible masse de cytoplasme et un noyau, accompagné de quelques plastes. Le plus souvent, la forme de la cellule est celle d'un tube plus ou moins flexueux ou variqueux ; les noyaux sont disposés en files, tantôt également distants, tantôt étroitement groupés ; dans ce dernier cas, ils proviennent vraisemblablement de divisions successives rapides. (Voir pl. III, fig. 2.)

Les plastes sont de tailles très variables : les plus petits ont des dimensions voisines de celles des mitochondries ; ils sont ovales, parfois assez allongés tant qu'ils sont jeunes, et prennent un contour plus arrondi quand ils sont de grandes dimensions. Ils restent d'ailleurs de taille inférieure à celle des grands phéoplastes de l'assise assimilatrice. Ces gros plastes sont souvent placés aux alentours du noyau, mais ceci n'est pas une règle absolue.

D'ailleurs, les diverses régions d'un même allélocyste peuvent présenter à ce point de vue des aspects assez différents. Certaines portions sont caractérisées par la présence de gros plastes d'une part, et de mitochondries d'autre part. D'autres régions ne présentent que des mitochondries et des plastes extrêmement jeunes. En certaines parties du cytoplasme, on voit que la majorité des plastes présentent la forme en haltère, caractéristique de l'état de division. Les précipités phénoliques sont assez fréquents, et situés, comme c'est presque toujours le cas, dans la portion externe du cytoplasme ou sur le bord des vacuoles.

II. — Structure des cellules constituant la tumeur inflammatoire.

A. — Cellules propres du nodule inflammatoire.

Comme nous l'avons vu dans un précédent chapitre, les cellules qui réagissent au contact de l'infection bactérienne dérivent des allélocystes. Nous décrirons rapidement les aspects de ces cellules qui acquièrent des caractères différents selon qu'elles sont situées à la partie externe de la tumeur, qu'elles siègent dans la région basale au contact des couches corticales et médullaires, ou qu'elles occupent la partie centrale de la tumeur.

a) Cellules a croissance rapide de la périphérie du nodule inflammatoire. — Nous comprenons dans ce paragraphe aussi bien les éléments des tout premiers stades de formation du foyer inflammatoire que les cellules à multiplication rapide qui, dans les stades plus tardifs, sont situées à la périphérie de la tumeur. En effet, deux groupes de ces cellules ont sensiblement les mêmes caractères généraux au point de vue histologique, et ont pour trait commun d'être, en quelque sorte, le méristème qui accroît le volume de la tumeur.

Elles sont caractérisées par de l'hyperplasie, par un bourgeonnement actif et par une augmentation considérable du nombre des noyaux. Le cytoplasme, en effet, est plus abondant que dans les éléments normaux, très compact, ne contenant que des vacuoles de très petites dimensions. Certains de ces éléments sont à la fois le siège de processus hypertrophiques et hyperplasiques et le volume du cytoplasme est alors beaucoup plus grand que chez l'allélocyste normal. (Voir pl. III, fig. 1 et 3.)

Plastes. — A cette augmentation de la masse protoplasmique correspond un nombre plus élevé de plastes, mais dont les dimensions sont plus petites. Il semble qu'il y ait, en effet, un certain rapport entre les dimensions des plastes et leur nombre, et que celui-ci soit d'autant plus grand que les plastes sont de plus petite taille. Comme chez les allélocystes normaux, ces plastes ont des dimensions variables, mais le nombre des cellules contenant des plastes de petites dimensions est plus élevé dans le tissu de la tumeur. Les figures de division des plastes y sont fréquentes.

Mitochondries. — Comme nous l'avons dit, il nous paraît souvent difficile de faire la distinction entre les plus jeunes plastes et les mitochondries. Toutefois, nous n'avons observé à propos de ces éléments aucune différence avec les cellules normales.

Précipités phénoliques. — L'augmentation énorme des composés phénoliques est un fait constant dans les tissus du noyau inflammatoire. Les corps phénoliques sont d'ailleurs inégalement abondants, selon l'âge de la tumeur et la situation des cellules. Aux stades intramédullaires, les grains de fucosane ne sont pas beaucoup plus nombreux que dans les tissus normaux. Cette substance est élaborée en beaucoup plus grande quantité dans les stades plus tardifs de l'évolution de la tumeur ; elle est surtout localisée dans les cellules de la périphérie. Presque tous les éléments de la tumeur en contiennent des quantités énormes. Si l'on fait une coloration à l'aide de vanilline chlorhydrique, on voit toute la zone périphérique externe colorée en rouge intense. Les grains de fucosane envahissent toute la cellule, à tel point que, dans certains éléments, le cytoplasme est formé d'un amas serré de précipité phénolique, où il est difficile de distinguer les noyaux et les plastes. La forme des grains est généralement ronde, quelquefois un peu anguleuse quand ils sont gros, ce qui se voit surtout dans les cellules âgées.

Cette accumulation de grains de fucosane paraît même être un mode de dégénérescence de la cellule : elle est, en effet, particulièrement fréquente dans les tumeurs âgées. Chez ces dernières, les précipités phénoliques abondent, non seulement dans les éléments propres du noyau inflammatoire, mais encore dans les cellules de l'écorce et du méristoderme qui les limitent.

Les cellules de la région basilaire et les cellules géantes qui se constituent à ce niveau en contiennent moins, bien que les

grains de fucosane y soient toujours en nombre beaucoup plus élevé que dans les cellules normales. On voit, en somme, que ces corps s'accumulent de préférence dans les régions externes de la tumeur, et qu'ils augmentent en abondance avec l'âge de la néoplasie. Ils paraissent donc se comporter comme un produit de déchet.

Noyau. — Les différences que l'on peut noter entre les éléments

Fig. 20. — *Cellule de la tumeur particulièrement riche en précipités phénoliques.*

A gauche, ils forment des granulations isolées. A droite, ils constituent de vastes plages.

(Gross. : 500.)

normaux et les éléments pathologiques portent sur le nombre et la structure des noyaux. Ce nombre est beaucoup plus élevé que dans les allélocystes normaux. Il est courant de voir des cellules ayant dix ou vingt noyaux. On voit à côté, il est vrai, de nombreux éléments provenant de bourgeonnements récents qui n'en possèdent qu'un ou deux. Le plus souvent, ces noyaux ne sont pas également répartis dans tout le cytoplasme, mais sont groupés d'une manière plus ou moins étroite. On peut voir ainsi

jusqu'à sept et huit noyaux étroitement groupés en rosette et presque accolés les uns aux autres. Enfin, leur taille est variable, ainsi que leurs affinités pour les matières colorantes.

Le plus souvent, les noyaux sont ovalaires et possèdent un nucléole assez gros. Cette forme, ainsi que le nombre des nucéloles, peut varier. Les gros noyaux, très colorables, et possédant deux nucléoles, ne sont pas rares. Mais on peut voir aussi des noyaux plus ou moins lobés et possédant un nombre de nucléoles plus

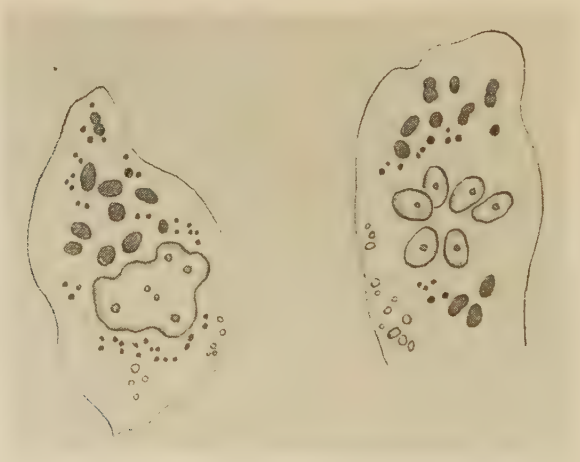


Fig. 21 et 22. — *Noyaux anormaux.*

Dans l'une des cellules, noyau de dimensions anormales contenant cinq nucléoles.

L'autre cellule contient des noyaux groupés en rosette.

Dans le cytoplasme, les précipités phénoliques sont figurés en clair, les plastes et mitochondries en noir.

(Gross. : 600.)

élevé. Nous figurons un exemple de ces anomalies nucléaires : le noyau, fortement lobé, avait dans ce cas une surface six à sept fois supérieure à celle d'un noyau normal et présentait cinq nucléoles, de tailles inégales. (Voir figure 21.)

b) Cellules géantes. — Ces grands éléments proviennent également des allélocystes ; leur caractère essentiel est l'hyperplasie de leur cytoplasme : à l'inverse des cellules de la région externe, ces éléments augmentent la masse de leur cytoplasme et le nombre de leurs noyaux sans que la division de la cellule vienne

limiter leur taille. Aussi ces éléments atteignent-ils des grandes dimensions, plusieurs centaines de μ en longueur, 30 à 40 μ de diamètre.

Le nombre de noyaux s'accroît proportionnellement : nous avons pu en compter plus de cent dans certaines cellules ; il n'est pas douteux qu'il y ait des cellules géantes qui en contiennent bien davantage; mais leurs grandes dimensions font qu'il est difficile d'observer la cellule entière et par conséquent d'apprécier leur nombre.

Fig. 23. — *Portion d'une cellule géante de la base de la tumeur.*

Le cytoplasme, très abondant, contient des précipités phénoliques, de nombreux plastes de petite taille. Dans les membranes, on peut voir les cordons bactériens.

(Gross. : 400.)

Plastes. — A mesure que ces cellules s'écartent du type des allélocystes normaux, leur cytoplasme prend le caractère des grandes cellules de la région médullaire ou corticale interne. Les plastes, extrêmement nombreux, de très petite taille et de dimensions assez égales, sont répartis uniformément dans le cytoplasme.

Dans la partie centrale de la cellule, une grosse vacuole s'allonge selon le grand axe.

D'autres petites vacuoles sont dispersées dans le cytoplasme. Quelques grains de fucosane s'y trouvent également.

B. — **Cellules situées à la périphérie de la tumeur.**

Ces éléments donnent des signes d'hyperactivité qui se caractérisent encore par l'hyperplasie et par la multiplication des noyaux. Ces deux caractères sont surtout nets chez les *grandes cellules corticales,* situées à la limite de la tumeur. Leur aspect se rapproche beaucoup de celui des cellules géantes, dont il est parfois malaisé de les distinguer ; toutefois, l'augmentation du nombre des noyaux atteint rarement une intensité comparable à celle de ces derniers éléments.

Les autres cellules corticales, ainsi que le méristoderme, sont parfois le siège d'une hyperplasie semblable. Mais les plastes ne présentent pas de phénomène de différenciation, comme pour les éléments précédents. Leur activité est seulement plus grande, et les figures de division y sont anormalement abondantes. L'élaboration de composés phénoliques y est également exagérée.

En résumé, les cellules néoplasiques à croissance rapide sont caractérisées avant tout par la multiplication nucléaire, le bourgeonnement, l'élaboration abondante de corps phénoliques.

Au contraire, les cellules géantes sont surtout caractérisées par l'hyperplasie, l'hypertrophie et l'augmentation du nombre des noyaux ; de plus, il existe chez ces éléments un certain degré de dédifférenciation. Elle se traduit par une diminution de volume des plastes, qui retournent à un type indifférent.

Relation des bactéries et des cellules inflammatoires. — Ainsi que nous l'avons déjà dit ailleurs, les bactéries sont situées toujours à l'extérieur du cytoplasme cellulaire. C'est dans la membrane qu'elles font leur apparition, à l'état de bactéries peu nombreuses, mais qui ne tardent pas à se multiplier. Cette multiplication se fait exclusivement dans la lamelle moyenne. A leur contact, la membrane se gélifie ; au sein de la substance gélifiée, la multiplication se poursuit de plus en plus activement, au point de former de gros cordons bactériens, et, à un stade plus avancé, des plages microbiennes étendues. Nous avons dit précédemment comment ces masses bactériennes, étroitement juxtaposées aux éléments inflammatoires, accompagnent ces derniers dans leur croissance périphérique et provoquent en certains points la formation des cellules géantes que nous avons signalée. Cependant, dans un nombre assez grand de cas, les masses bactériennes en voie de multiplication finissent par déterminer une véritable dis-

sociation des cellules qu'elles refoulent et écartent les unes des autres : à ce moment, l'on voit des cellules isolées plongées au sein d'une masse colloïdale provenant de la gélification des membranes envahies par les bactéries.

Pendant ce temps, des phénomènes de cytolyse ne tardent pas à apparaître à l'intérieur des cellules, bien que ces dernières ne soient pas encore directement envahies par les micro-organismes (phénomènes de cariolyse, de pycnose, altération des plastes, etc.). Il y a là, incontestablement, une action toxique sur le cytoplasma cellulaire, qui est envahi secondairement par les bactéries. (Voir pl. I, fig. 3.)

Bientôt, les phénomènes de nécrose s'accentuant, les restes de membranes cellulaires se détruisent à leur tour et le cytoplasma cellulaire est envahi secondairement par les bactéries.

On voit se constituer de la sorte au centre de la tumeur des foyers étendus de nécrose où nagent, au milieu des bactéries, les résidus de la destruction cellulaire.

CHAPITRE VIII

TUMEURS BACTÉRIENNES DU CHONDRUS CRISPUS

Comme le Saccorhiza bulbosa, le Chondrus crispus est susceptible de présenter des tumeurs dont nous montrerons l'origine bactérienne. Nous décrirons rapidement la structure de la plante normale, pour faciliter la compréhension de celle de la tumeur. Nous exposerons dans un chapitre ultérieur les essais expérimentaux que nous avons tentés.

A. — Structure du thalle normal.

Le thalle du Chondrus est constitué par des éléments moins profondément différenciés que ceux du Saccorhiza bulbosa ; l'aspect de ses cellules change toutefois selon qu'elles sont situées à la surface ou dans la profondeur.

a) Assises superficielles. — Elles sont constituées par des éléments de petites dimensions, polyédriques, pourvus d'un seul

noyau. Presque toute la cellule est occupée par de gros plastes, très contournés, au nombre de quatre ou cinq environ.

Les dimensions des cellules croissent à mesure que les assises sont plus profondes, mais celles-ci gardent les mêmes caractères. Toutefois les plastes, moins épais que dans l'assise superficielle, deviennent de plus en plus allongés et quelquefois ramifiés.

Toutes les cellules de ces assises communiquent avec les assises

Fig. 24 et 25.

(gross. : 750).

A gauche : aspect des plastes des cellules normales de Chondrus crispus dans les assises superficielles.

A droite : cellules des assises profondes ; les plastes sont beaucoup plus allongés, parfois bifurqués.

sus et sous-jacentes, ainsi qu'avec les éléments voisins de la même assise. Ces communications intercellulaires, ou plasmodesmes, se rattachent au corps de la cellule par une portion allongée du cytoplasme qui ne contient généralement pas de plastes. Les plasmodesmes sont constitués par une sorte de disque plus ou moins bombé correspondant au cytoplasme de chaque cellule (voir la figure 24). Chaque cellule possède ainsi quatre ou cinq plasmodesmes.

Dans les assises plus profondes, le volume occupé par les plastes diminue par rapport au volume total de la cellule, dont le centre est occupé par une grande vacuole.

b) Eléments profonds. — Alors que les cellules des couches superficielles sont plus allongées dans le sens radial, celles de la portion centrale du thalle sont allongées dans un sens perpendiculaire à la direction radiale. Elles constituent de la sorte des

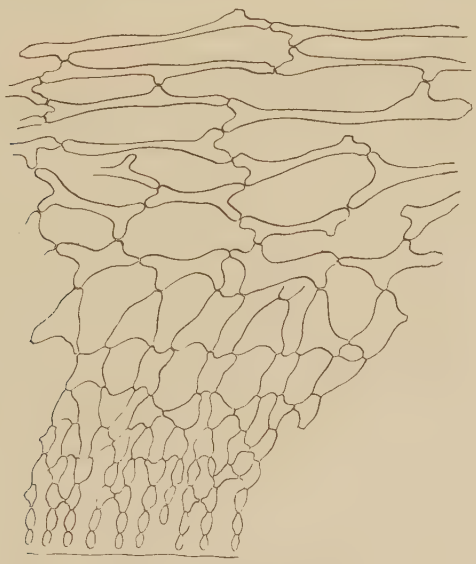


Fig. 26. — *Schéma de la disposition des cellules du Chondrus crispus.*

Les cellules superficielles (en bas) sont alignées perpendiculairement à l'axe du thalle. Les assises profondes (en haut) sont allongées parallèlement à cet axe.

(Gross. : 200.)

files parallèles de longs éléments tubulaires, rarement bifurqués. Des plasmodesmes relient entre elles les extrémités de ces cellules, dont le grand axe coïncide avec l'axe de symétrie du thalle. Leur plus grand diamètre mesure environ 100 μ, le plus petit 10 ou 15 μ. Elles contiennent un cytoplasme plurinucléé; des plastes très allongés, sinueux, presque filiformes, sont appliqués contre la paroi cellulaire externe ; le centre de la cellule est occupé par une vacuole allongée.

B. — Structure de la tumeur.

a) Morphologie. — La tumeur peut apparaître en tous les points du thalle sans présenter aucune différence d'aspect extérieur. Le siège le plus fréquent en est l'extrémité supérieure de l'algue, et se trouve plus particulièrement au niveau de son bord libre. On voit à ce niveau des tumeurs d'un jaune clair ou verdâtre, dont la taille varie depuis celle des nodules à peine visibles à l'œil nu jusqu'à celle de masses de tissus inflammatoires qui

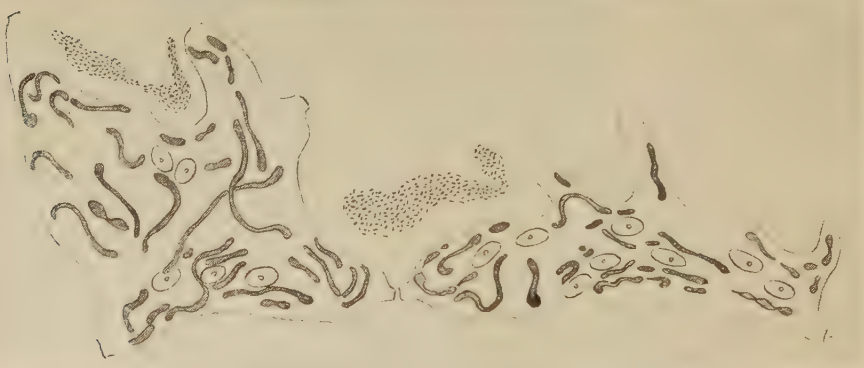


Fig. 27. — *Cellules de la tumeur de Chondrus cripus.*

La forme de la cellule diffère de celle des cellules normales de la profondeur par sa moindre longueur. L'infection est discrète dans le cas représenté par la figure, et n'a pas altéré la forme des plastes.

(Gross. : 500.)

atteignent 7 à 8 millimètres de diamètre. Tant qu'il est de petite taille, ce nodule est lisse et plus ou moins sphérique ; bientôt il change d'aspect : sa surface perd sa régularité primitive et devient inégale et bosselée. La tumeur paraît alors composée par l'agrégat d'une série de nodules élémentaires plus ou moins confluents.

Il est presque de règle d'observer la destruction partielle des tumeurs anciennes qui s'ulcèrent. Cette perte de substance se fait le plus souvent au centre, et la partie nécrosée s'élimine.

Dans certains cas, la tumeur, au lieu de s'ulcérer, évolue dans un autre sens. Les tissus de la néoplasie reprennent la consistance plus ferme et la coloration brun-rouge du thalle normal. Il semble

qu'il y ait une guérison, au moins apparente, et que le processus néoplasique soit arrêté. Cette tumeur en voie de guérison ne tarde pas à donner naissance à de rejets de forme irrégulière, véritables expansions du thalle, comparables aux proliférations bien connues qui, chez les algues, sont consécutives à divers traumatismes.

b) Structure microscopique. — L'examen des coupes passant par la base d'implantation de la tumeur nous permet d'en comprendre la structure.

Comme dans le cas du Saccorhiza bulbosa, les assises superficielles peuvent être influencées par la présence de la tumeur, mais ne jouent aucun rôle essentiel dans sa genèse.

Les éléments profonds du thalle sont, au contraire, le siège d'une multiplication active qui a pour résultat de modifier leur orientation : les longues cellules tubulaires et les assises voisines se dressent alors vers la surface et constituent par leur prolifération une masse de tissu inflammatoire qui soulève les assises cellulaires superficielles. (Voir pl. IV.) Au sein de cet amas de cellules réactionnelles, on constate la présence de plages bactériennes. Ces dernières ont un aspect un peu différent de celles qu'on voit dans l'infection du Saccorhiza bulbosa.

Ici, en effet, elles sont beaucoup plus larges, moins régulières de forme, que les cordons bactériens du Saccorhiza. Ce fait s'explique par la disposition des membranes du Chondrus, à l'intérieur desquelles se développent ces micro-organismes. Pas plus que dans l'exemple précédent, en effet, on ne peut trouver de bactéries dans les cellules, à moins qu'il ne se produise une nécrose des tissus. Les membranes intercellulaires à l'intérieur desquelles se développent les micro-organismes ont une paroi beaucoup plus épaisse que chez le Saccorhiza bulbosa. Les cellules sont, en effet, noyées en quelque sorte dans une substance intercellulaire au sein de laquelle les bactéries forment une série d'amas épais, reliés les uns aux autres par des cordons plus ténus.

Forme des bactéries. — Ce sont des bacilles très petits, plus courts en général que ceux du Saccorhiza, mais présentant les mêmes caractères généraux que les bactéries que nous avons isolées et décrites au chapitre précédent.

Evolution de la tumeur. — A mesure que la tumeur s'accroît, nous voyons la surface présenter des lobes et des incisures de plus en plus accusées ; c'est là la preuve d'une croissance inégalement

rapide des divers points de la néoplasie. Il est facile de voir, en effet, que l'infection bactérienne n'est pas également prononcée dans tous les points du nodule inflammatoire. Certaines régions présentent une abondance remarquable de plages bactériennes : au niveau de ces points, la prolifération cellulaire est particulièrement active. Il se constitue ainsi, au fur et à mesure que la tumeur s'accroît et vieillit, une série de foyers inflammatoires secondaires, qui s'accroissent chacun pour son propre compte et constituent autant de nodules néoplasiques, qui s'isolent plus ou moins des nodules voisins. Entre ces divers nodules, le tissu de la tumeur présente des caractères voisins de ceux du tissu normal. En tous cas, la zone de croissance active tend à se localiser à la périphérie de la tumeur, comme chez le Saccorhiza bulbosa, et c'est à ce niveau également que l'on voit les plus gros cordons bactériens.

Suivons maintenant la destinée des assises superficielles qui ont été soulevées par le nodule inflammatoire et qui lui constituent une couche protectrice, le séparant du milieu extérieur. Ces éléments superficiels, tout en se multipliant, ne sont jamais envahis par les bactéries pathogènes et conservent jusqu'à la fin leur caractère de cellule normale. Comme nous l'avons montré à propos du Saccorhiza bulbosa, ici également les couches externes qui limitent la tumeur ne peuvent suivre indéfiniment son mouvement d'expansion ; elles se détruisent alors partiellement, et une large surface du nodule inflammatoire se trouve alors au contact direct de l'eau de mer. Ici encore, il se produit des infections bactériennes secondaires et la pullulation de toute une flore microscopique qui détermine, dans la tumeur, la formation d'ulcérations plus ou moins profondes.

Dans d'autres cas, les ulcérations peuvent avoir une origine interne : la multiplication bactérienne entraîne la nécrose d'une partie des tissus, qui s'éliminent ensuite à l'extérieur.

c) Caractères des cellules néoplasiques. — Selon l'intensité de l'infection, les cellules de la tumeur prennent des aspects variables qui s'écartent plus ou moins du type cellulaire normal.

Cellules siégeant en plein foyer infectieux. — Ces éléments perdent, le plus souvent, la forme allongée et tubulaire des cellules dont proviennent les tissus néoplasiques. Elles sont plus courtes, deviennent irrégulièrement polyédriques et multiplient le nombre de leurs anastomoses avec les cellules voisines. La pré-

sence de ces multiples plasmodesmes donne à ces éléments un aspect étoilé.

Ici également, le nombre des noyaux est fortement augmenté, il varie beaucoup d'une cellule à l'autre. Les cellules contenant une dizaine de noyaux ne sont pas rares, mais on peut en rencontrer qui possèdent jusqu'à vingt ou trente noyaux.

Ces cellules à très nombreux noyaux atteignent des dimensions bien supérieures à la moyenne et se relient par des ponts intra-

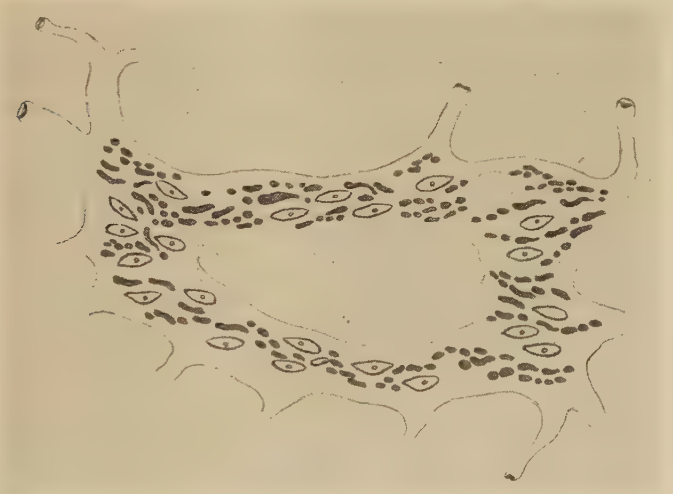


FIG. 28. — *Grande cellule de la tumeur avec nombreux noyaux et nombreuses plasmodesmes.*

Les plastes sont très fragmentés, ce qui est fréquent dans les foyers très infectés.

(Gross. : 400.)

cellulaires aux cellules plus petites qui les entourent : c'est ainsi que, dans un cas, nous avons pu compter, pour un seul de ces grands éléments, plus de quinze plasmodesmes.

Plastes. — Ils présentent de grandes variations d'une cellule à l'autre. Quand ces cellules sont situées dans une région où le nombre des bactéries est faible, ils conservent l'aspect des plastes de la partie profonde du thalle et se présentent comme de longs filaments flexueux. Leur nombre, toutefois, est plus élevé que dans les éléments normaux, et leur distribution dans l'intérieur de la cellule est moins régulière.

Les cellules situées en plein foyer infectieux présentent une fragmentation ou un raccourcissement plus ou moins prononcé des plastes. Cet aspect nous semble correspondre bien à la réalité et ne semble pas être dû à une altération de la forme des plastes au cours de la fixation ; en effet, on peut les observer aussi bien sur le bord externe de la coupe où la fixation est la meilleure, que dans les régions plus profondes. En outre, cet aspect particulier est toujours en rapport avec un développement bactérien extrêmement abondant, et semble traduire un état d'altération de la cellule.

On trouve ainsi tous les intermédiaires entre de longs plastes,

Fig. 29. — *Cellule de la tumeur dans une région très infectée par les bactéries.*

Les plastes y sont généralement épais, courts et fragmentés.

(Gross. : 500.)

filamenteux et de petits plastes ovalaires, plus ou moins allongés, de largeur variable, mais toujours beaucoup plus petits et plus nombreux que les premiers. On a l'impression qu'il s'agit d'une fragmentation des grands plastes filamenteux. Cet aspect spécial des plastes ne se rencontre jamais dans les cellules dont les formes se rapprochent de celles des éléments normaux. Il est de règle dans la région où apparaissent les foyers de nécrose, ce qui confirme notre hypothèse que la présence de ces plastes courts et de faibles dimensions n'a rien d'artificiel et traduit bien réellement un état pathologique du cytoplasme.

Comme on le voit, la constitution des tumeurs du Chondrus crispus est moins complexe que celle du Saccorhiza bulbosa, fait qui est en rapport avec la complexité moindre de l'algue rouge.

Malgré cette différence, les traits essentiels de la structure et l'évolution de la néoplasie sont entièrement comparables à ce que l'on observe dans le premier cas.

Les similitudes constatées entre les tumeurs de Saccorhiza bulbosa et de Chondrus crispus ne s'arrêtent pas aux caractères anatomo-pathologiques de ces derniers ; la distribution topographique des pieds infectés est la même pour les uns et pour les autres et les foyers épidémiques coïncident pour les deux espèces. Cette coïncidence est d'autant plus frappante que l'aire de distribution des deux espèces n'est pas la même ; celle de Saccorhiza s'arrêtant à la limite des plus basses mers et celle de Chondrus se prolongeant jusqu'aux zones supérieures que la marée atteint en morte eau. Malgré cela, ce n'est qu'au niveau de la zone de ces Laminaires que l'on trouve les Chondrus porteurs de tumeurs. Bien plus: Saccorhiza et Chondrus malades se trouvent au contact les uns des autres. Il n'est pas douteux, après cela, qu'il s'agisse là d'infection en foyers, atteignant simultanément l'une et l'autre espèce, et due, par conséquent, au même germe pathogène.

CHAPITRE IX

REPRODUCTION EXPÉRIMENTALE DES TUMEURS

Nous avons réussi à reproduire expérimentalement sur le Chondrus crispus les tumeurs bactériennes, soit en partant de tumeurs spontanées, broyées et inoculées à des pieds sains, soit en partant d'une culture pure de bactéries.

Signalons tout d'abord les difficultés de l'expérimentation. En effet, il est malaisé d'entretenir en bon état et pendant un temps assez long des pieds de Chondrus dans les bacs à eau courante de la station biologique.

Quant à l'expérimentation sur les Saccorhiza bulbosa, nous avons dû y renoncer après de nombreux essais, la résistance de cette espèce dans les bacs étant encore bien moindre que celle du Chondrus. Aussi le nombre de résultats positifs a-t-il été très petit relativement aux tentatives multiples que nous avons faites; ces résultats ont été néanmoins assez nets pour nous permettre

d'affirmer et la nature infectieuse de la tumeur, et la spécificité de la bactérie isolée par nous.

Lorsqu'il s'agissait de tumeurs broyées, nous procédions de la façon suivante : nous prélévions, au centre d'une tumeur bien saine, non ulcérée, de petits fragments que nous émulsionnions

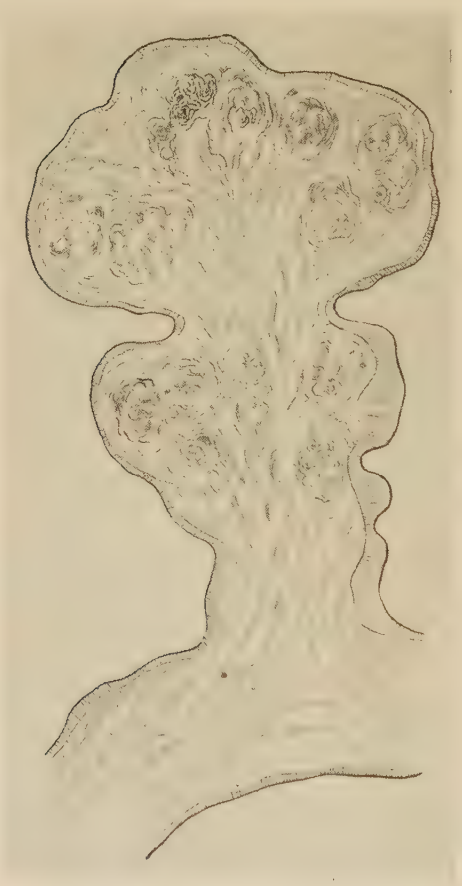


Fig. 30. — *Aspect schématique d'une tumeur expérimentale.*

Le tissu de la tumeur est en rapport avec les couches profondes du thalle normal. La tumeur comprend un grand nombre de petits foyers infectieux.

Fig. 31. — *Détail de la tumeur expérimentale.*

L'aspect des cellules et les dispositions des plages bactériennes dans la substance intercellulaire sont les mêmes que chez les tumeurs spontanées.

(Gross. : 500.)

après écrasement préalable dans quelques gouttes d'eau de mer stérile. Au moyen de l'extrémité tranchante d'une pipette contenant l'émulsion, nous pratiquions des scarifications à la surface du stipe, assez profondément pour arriver jusqu'à proximité de la moelle. Le pied inoculé était maintenu pendant quelques minutes hors de l'eau, afin d'empêcher l'entraînement mécanique par l'eau du bac de la substance inoculée. Sur d'autres pieds maintenus dans le même bac, nous pratiquions des scarifications témoins avec une pipette ne contenant pas d'émulsion.

Dans d'autres cas, nous inoculions par la même méthode un peu de culture bactérienne âgée de quarante-huit heures.

Nous avons obtenu de la sorte trois résultats positifs : deux fois avec la tumeur broyée et une fois avec l'émulsion bactérienne.

Nous prenions soin de n'employer que des pieds récoltés dans des zones de la plage où nous n'avions jamais pu observer d'individus atteints de tumeurs. Ajoutons que jamais nous n'avons vu se développer de nodule néoplasique au niveau des scarifications témoins.

Lorsque les résultats sont positifs, l'on constate déjà, six semaines après l'inoculation, au niveau du point scarifié, de petits nodules de tailles variables et présentant à l'extérieur l'aspect de jeunes tumeurs spontanées.

Comme on le voit par les figures annexées, ces tumeurs expérimentales ont exactement la structure des tumeurs spontanées que nous avons longuement étudiées dans le chapitre précédent. On y constate la présence d'une série de petits noyaux inflammatoires, séparés par du tissu d'aspect plus normal. Ces foyers sont constitués par les cellules d'origine médullaire dont nous avons donné la description précédemment ; entre elles se retrouvent les amas bactériens sous forme de cordons ou de plages, tout comme dans la tumeur naturelle. Bref, la tumeur expérimentale reproduit tous les caractères anatomo-pathologiques de la tumeur spontanée.

CHAPITRE X

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

1. — Il n'est pas rare de rencontrer à la surface du thalle de certaines algues marines des excroissances ou tumeurs, très variables de taille, de forme et de groupement, tranchant nettement par leur couleur sur les tissus de la plante.

Ces néoformations sont particulièrement apparentes chez Saccorhiza bulbosa; on les rencontre également chez Chondrus crispus, Cystoclonium purpurascens, Fucus serratus et d'autres encore. Nous ne reviendrons pas ici sur la description de leur aspect extérieur.

Comme l'on rencontre fréquemment, chez Saccorhiza bulbosa par exemple, un petit mollusque (Helcion pellucidum) étroitement appliqué contre les parois de la logette ulcérée que l'on observe souvent à la base de la tumeur, on serait tenté, au premier abord, d'attribuer à ce petit Prosobranche le rôle d'un agent irritant ayant déterminé la prolifération des tissus normaux ; ces excroissances seraient dès lors comparables aux galles de certains Phanérogames, dont le développement est provoqué par la piqûre de divers insectes.

Cette impression se trouve renforcée par le fait qu'un examen attentif démontre souvent, à l'intérieur de tumeurs appartenant à des algues autres que Saccorhiza bulbosa, la présence d'un hôte étranger, Nématode ou larve de crustacé. Nos recherches ont prouvé que, si ces hôtes étrangers jouent peut-être un certain rôle dans la genèse des tumeurs, ils n'en sont pas en tous cas l'agent causal.

2. – Si nous recherchons maintenant quelle est la distribution topographique des algues porteuses de tumeurs, nous ne tarderons pas à constater un fait des plus suggestifs, à savoir que ces algues malades forment des groupements en foyers bien limités, souvent séparés les uns des autres par de larges espaces, et à l'intérieur desquels se rencontrent des pieds malades appartenant à des espèces d'algues différentes. Cette constatation suggère aussitôt l'idée que l'agent causal des tumeurs est un agent infectieux capable de disséminer la maladie et qu'il s'agit là de véri-

tables foyers épidémiques ; en second lieu, que cet agent pathogène est le même pour les différentes espèces qui constituent ces centres de contamination.

Il existe d'ailleurs un certain nombre de facteurs écologiques nécessaires à l'existence de ces foyers ; c'est ainsi qu'ils sont toujours situés dans les zones les plus battues par les vagues et au voisinage immédiat de la limite des plus basses mers. De plus, signalons ce fait, constaté par nous au cours de plusieurs années, à savoir que ces foyers se reproduisent constamment aux mêmes points, d'une année à l'autre.

3. — Ces tumeurs sont constamment parasitées par une bactérie que nous avons isolée en culture pure, et dont nous avons donné les caractères dans notre travail. Cette bactérie est la même pour les différentes espèces d'algues étudiées par nous (la coexistence d'algues appartenant à des espèces différentes au sein d'un même foyer épidémique en constituerait à elle seule une preuve importante).

Cette bactérie est bien l'agent pathogène causal de nos tumeurs: sa constance, à l'intérieur de ces dernières ; l'étroite relation qui existe entre les cellules en voie de prolifération et les cordons bactériens qui les enserrent ; son affinité évidente pour certaines catégories de cellules (cellules de la moelle) ; son absence au niveau de tissus qui ne prennent aucune part directe à la constitution de la tumeur ; l'action toxique exercée par ses produits solubles sur le cytoplasme cellulaire ; la relation incontestable qui existe entre la progression des bactéries issues d'une tumeur primitive et l'apparition de tumeurs métastatiques sur le trajet suivi par ces bactéries ; enfin la reproduction des tumeurs par l'inoculation expérimentale à des thalles sains, en dehors de tout foyer infectieux : tout cela démontre abondamment et le rôle pathogène de notre bactérie et sa spécificité.

Nous sommes parvenu, en effet, à réaliser la production de tumeurs expérimentales présentant exactement la structure des tumeurs spontanées en inoculant à des thalles sains soit le produit de broyage d'une de ces tumeurs spontanées, soit la culture bactérienne elle-même.

4. — Ces tumeurs se développent exclusivement aux dépens des éléments profonds du thalle, c'est-à-dire aux dépens des éléments médullaires (allélocystes dans le cas de Saccorhiza bulbosa). Comme on le voit, ce sont les éléments peu différenciés des tissus

qui interviennent seuls dans la constitution de la néoplasie ; ce caractère embryonnaire s'accentue encore dans les cellules pathologiques en voie de prolifération active (augmentation de la masse nucléaire totale par rapport au cytoplasme, dédifférenciation des plastes, processus hyperplasiques, etc). Quant aux autres tissus (tissus corticaux), ils ne jouent dans la genèse de la tumeur qu'un rôle accessoire.

Il existe une relation très stricte entre les cellules en voie de prolifération et les bactéries pathogènes qui constituent un réseau étroitement appliqué à leur surface ; les bactéries accompagnent les cellules dans leur mouvement d'extension et progressent avec elles, alors qu'elles se raréfient de plus en plus dans les couches centrales de la tumeur. La réaction des cellules tumorales vis-à-vis de ces bactéries se traduit vers la base de la tumeur par la formation de cellules géantes multinuclées que nous avons décrites au cours de notre travail, et vers l'extérieur par la constitution d'une zone de petites cellules en voie de prolifération suractive.

Notons ici que, de même que dans certaines tumeurs bactériennes des Phanérogames (pin, olivier, etc.), la situation des bactéries reste extracellulaire; leur développement débute à l'intérieur de la membrane intercellulaire et s'y poursuit en dissolvant la lamelle moyenne. Ce n'est qu'à l'intérieur des cellules nécrosées par l'action des produits bactériens que l'on peut rencontrer ces micro-organismes. Les traits essentiels du processus inflammatoire sont les mêmes chez les espèces d'algues que nous avons étudiées ; ce processus, qui constitue la réponse de l'organisme infecté à un même agent infectant, est plus ou moins complexe selon que l'algue considérée appartient à une espèce plus ou moins élevée en organisation.

5. — Il se produit souvent une dissémination de l'infection bactérienne à partir d'une tumeur primitive. Le cheminement des microbes dans l'épaisseur du tissu se fait généralement le long des éléments allongés de la moelle. De place en place, sur ce trajet, se produisent des tumeurs-filles disposées en files linéaires et dont la taille décroît à mesure que l'on s'éloigne du foyer primitif. A un stade suffisamment précoce, on saisit le cheminement des agents infectieux ; à un stade ultérieur, ceux-ci ne tardent pas à disparaître dans l'intervalle des tumeurs-filles, qui constituent autant de nouveaux foyers d'infection.

Comment interpréter la disparition des bactéries dans l'inter-

valle qui sépare les foyers secondaires, alors qu'on les retrouve en grand nombre à l'intérieur de ces foyers ? Il est permis de supposer qu'au cours de cette infestation le petit nombre des bactéries qui cheminent dans l'épaisseur des tissus est soumis à l'action antagoniste de ces derniers. Certaines d'entre elles, en s'encapsulant, parviennent à échapper à cette cause de destruction et, par là même, exaltent leur virulence. Cette hypothèse est d'accord avec tout ce que nous savons aujourd'hui sur le mécanisme de l'accroissement de la virulence, chez les bactéries pathogènes, au cours des infections.

Bien qu'il s'agisse ici d'une dissémination du processus pathologique par l'agent infectieux lui-même, et non par la migration d'une cellule infectée, nous pensons qu'il est légitime de conserver à ces tumeurs de nouvelle formation le nom de tumeur métastatique, en conservant à ce terme son sens étymologique, trop souvent oublié par les auteurs qui ont une tendance à le réserver exclusivement aux greffes spontanées observées dans la dissémination des tumeurs malignes.

6. — Quelle idée peut-on se faire des processus d'immunité mis en œuvre par l'algue pour se défendre contre l'infection bactérienne ?

L'existence de ces réactions d'immunité n'est pas douteuse : nous n'en voulons pour preuve que l'arrêt qui se produit dans la diffusion de l'infection sous forme de foyers inflammatoires localisés. Il faut reconnaître cependant que l'intimité de ce mécanisme nous échappe encore. Nous ne sommes jamais parvenu à saisir des phénomènes de lyses intracellulaires analogues à celles qui ont été décrites par Noël Bernard, au cours de l'infestation des racines d'orchidées. Il est probable que, dans le cas de nos algues, il y a élaboration par les cellules réactionnelles de substances antagonistes qui déterminent la lyse microbienne et s'opposent à leur prolifération excessive. N'oublions pas, en effet, que, dans certains cas cités au cours de notre travail, l'intensité de la multiplication bactérienne est le corollaire de la nécrose des éléments inflammatoires. Nous avons vu également que les bactéries elles-mêmes réagissent à ces actions antagonistes par la formation d'une capsule. Le fait que dans nos essais de culture nous n'avons obtenu la multiplication des bactéries qu'en ensemençant des parcelles minuscules de tumeur et qu'au contraire le développement ne se produisait plus lorsque l'on ensemençait des blocs volumineux de tissu normal, plaide en faveur de notre

hypothèse. Là aussi, il y a un rapprochement à faire avec l'action fungicide signalée par Noël Bernard lorsqu'il déposait des fragments de bulbes d'orchidée à la surface de milieux de culture.

7. — Le rôle pathogène de notre bactérie étant démontré, l'on doit se demander quel est le mécanisme par lequel se produit l'effraction des tissus corticaux et son inoculation aux assises profondes de la plante.

Il n'est pas absolument nécessaire de faire intervenir ici l'action inoculatrice d'un hôte intermédiaire, puisque nous sommes parvenu à réaliser l'infection expérimentale par l'inoculation directe de fragments de tumeurs ou de cultures bactériennes.

Il est néanmoins assez vraisemblable que, dans la pratique, certaines espèces animales commensales jouent le rôle d'agent d'inoculation soit comme porteur de germes infectieux, soit en qualité de simple agent d'effraction.

Nous avons signalé la fréquence des Helcion, de certains Nématodes et de certaines larves de Crustacés, logés dans l'épaisseur des tissus corticaux, au niveau de la tumeur, et souvent porteurs, à la surface de leurs téguments, d'amas bactériens, parmi lesquels se trouvent également les bactéries spécifiques.

N'oublions pas que, dans la genèse de certaines tumeurs végétales et animales, on a souvent invoqué le rôle vecteur de certains agents animaux (Nématodes divers, Acariens, insectes). Qu'il nous suffise de signaler ici la coïncidence fréquente du commensal et de l'infection. Nous ignorons encore dans quelle mesure cette interaction est vraiment nécessaire.

8. — Les néoplasies d'origine animale ou végétale peuvent se grouper, un peu schématiquement il est vrai, en deux grandes catégories principales : les tumeurs malignes (cancers proprement dits) et les tumeurs inflammatoires. Parmi ces dernières, nous pouvons distinguer, chez les végétaux, les galles proprement dites et les tumeurs bactériennes, souvent désignées sous le nom de cancers des plantes.

Les galles proprement dites, avec leur hyperplasie cellulaire très limitée, leur absence de lésions ulcératives et l'absence de métastases, ne correspondent guère au type que nous étudions dans ce travail. Les zoocecidies à Nématodes, dont la croissance est moins strictement limitée, semblent constituer un type intermédiaire et se rapprochent davantage des tumeurs bactériennnes.

Les tumeurs bactériennes des algues ne présentent à aucun

degré de prolifération atypique; leurs métastases ne résultent pas d'une greffe cellulaire transportée à distance ; enfin elles sont dépourvues de malignité, et leur développement n'influence en rien l'état général de la plante. Comme on le voit, ces caractères négatifs les éloignent des tumeurs cancéreuses.

D'autre part, leur croissance non limitée, la faculté de donner naissance à des nodules métastasiques et leur tendance ulcérative les éloignent également des galles au sens strict.

Il s'agit donc de tumeurs inflammatoires qui, grâce à la faculté de multiplication de leur agent pathogène, peuvent elles-mêmes s'étendre considérablement et se multiplier à l'infini. Peut-être le nom de Bacteriocecidies pourrait-il convenir à cette catégorie spéciale de néoplasies. En tous cas, de même que les néoplasies inflammatoires des animaux, il faut les considérer comme le résultat d'un processus défensif de l'organisme vis-à-vis de l'agent infectieux, mais l'absence de cellules mobiles douées d'un pouvoir migrateur leur imprime un caractère qui diffère nettement de celui des nodules inflammatoires chez les animaux.

Il nous semble que les tumeurs à Bacterium tumefaciens des Phanérogames se rapprochent, comme type biologique, des tumeurs bactériennes des algues. Si elles en diffèrent par l'absence de bactéries visibles dans les centres de prolifération active (ce que l'on pourrait peut-être interpréter par la présence d'un ultravirus), elles s'en rapprochent, au contraire, par toute la série des caractères qui éloignent les tumeurs inflammatoires des tumeurs cancéreuses; elles s'en rapprochent également par leur étiologie nettement bactérienne, par leur tendance extensive, par le fait qu'on peut en réaliser l'inoculation expérimentale, et enfin par l'existence de métastases chez les unes comme chez les autres. La constatation faite par nous de reliquats inflammatoires dans les intervalles séparant les tumeurs-filles pourrait peut-être apporter quelque éclaircissement relativement à la signification des « tumor tissues » qui, dans les tumeurs d'E. Smith, relient entre eux deux foyers métastatiques.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Barton : *Journ. of Botany*, t. 26, 1891, et t. 39, 1901.

A. Cantacuzène : « Tumeurs bactériennes des thalles de Saccorhiza bulbosa. » (*C. R. Soc. Biologie*, Paris, t. XCIX, 1928.)

— « Structure anatomique des tumeurs bactériennes de Saccorhiza bulbosa. » (*C. R. Soc. Biol.*, t. XCIX, 1928.)

— « De l'existence de tumeurs chez diverses algues marines, et de leur répartition régionale. » (*C. R. Soc. Biol.*, t. XCIX, 1928.)

— « Reproduction expérimentale des tumeurs bactériennes chez Chondrus crisp. Lyngh. » (*C. R. Soc.*, t. CI, 1929.)

E. Chemin : « Action des bactéries sur quelques algues rouges. » (*Bulletin Soc. Bot. de France*, t. LXXIV, 5e série, f. 3, 1927.)

Killian : « Beiträge zur Keutniss der Laminarien. » (*Zeitschrifft für Botanik*, t. 3, Iéna, 1911.)

Kuster : *Die Gallen der Pflanzen*, Leipzig, 1911.

De Man : *Festschrifft für Leuckart*, 1892.

Oltmans : *Morphologie und Biologie der Algen.*

Prillieux : *Revue générale de Botanique*, t. 1, 1889.

— *Annales Inst. Agron. Nancy*, 1890.

Sauvageau : « Recherches sur les Laminaires des côtes de France. » (*Mémoires Ac. des Sciences*, Paris, 1918.)

F. Schmitz : *Botanik Zeitung*, t. 50, 1892.

Savastano : *C. R. Ac. des Sciences*, Paris, 1886.

E. Smith : *Bacteria in relation to plant diseases*, 1911.

Trotter : *Galles bactériennes sur Caulerpa* (voir Kuster).

Vuillemin : *C. R. Ac. Sciences*, Paris, t. 107, 1888.

PLANCHE I

Moelle du Sacchoriza bulbosa.

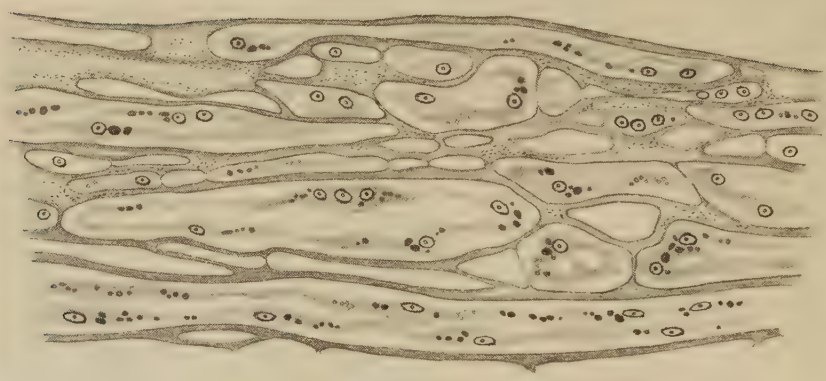


Fig. 1. — *Progression des cordons bactériens dans les membranes intercellulaires de la moelle.*

L'infection discrète ne provoque qu'une faible réaction cellulaire. Ce stade de diffusion de l'infection précède la formation des tumeurs inflammatoires.

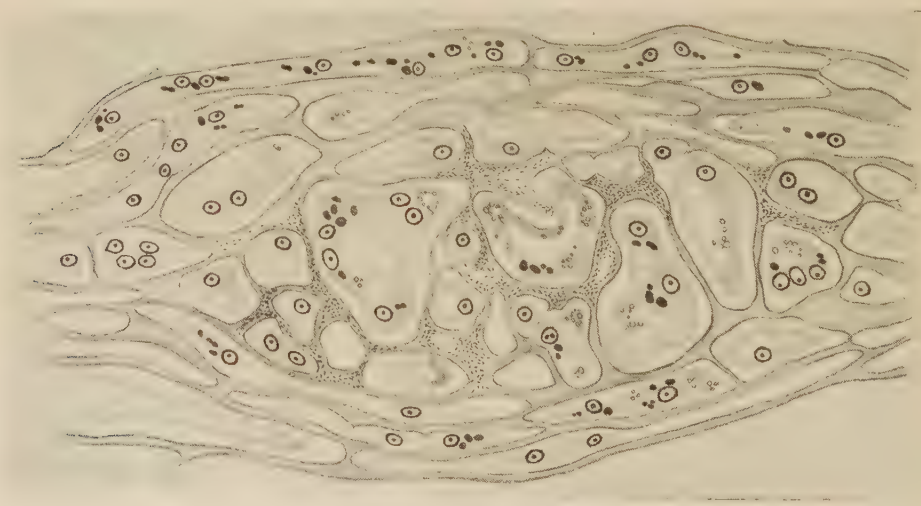


Fig. 2. — *Premier stade de la formation de la tumeur à l'intérieur de la moelle.*

Les bactéries se sont beaucoup multipliées dans la lamelle moyenne des membranes intercellulaires et distendent par places ces membranes. Les allélocystes, hyperplasiés, se multiplient et constituent un petit nodule.

PLANCHE I *(suite)*

Fig. 3. — *Phénomène de nécrose dans un petit foyer inflammatoire dans la moelle.*

Les bactéries se sont multipliées d'une façon excessive, détruisant les membranes intercellulaires et nécrosant les cellules de l'algue. Le centre du foyer de nécrose est composé d'une masse d'innombrables bactéries et de quelques débris de la membrane.

(Gross. : environ 250.)

PLANCHE II

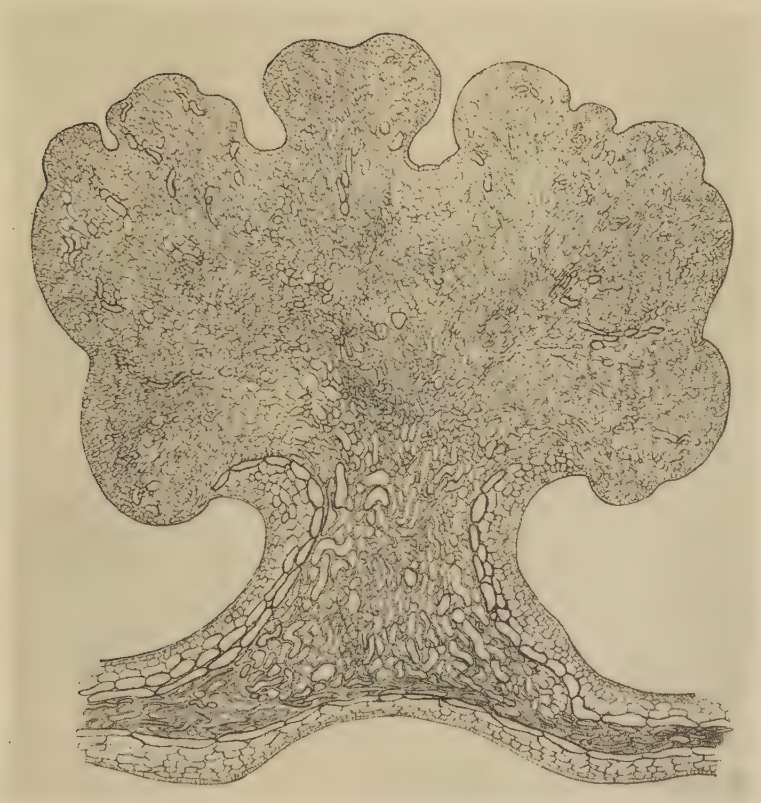


FIG. 1. — *Tumeur parvenue à son plein développement. Coupe passant par l'axe de la tumeur.*

La base de la tumeur est en continuité avec la moelle normale de l'algue. L'écorce ne limite la tumeur que dans son tiers inférieur. Au-dessus, le tissu de la tumeur est presque partout en contact avec le milieu extérieur. Noter la différence de taille entre les cellules de la base de la tumeur et celles de la portion périphérique du thalle.

(Gross. : cinq fois.)

PLANCHE III

Allélocystes.

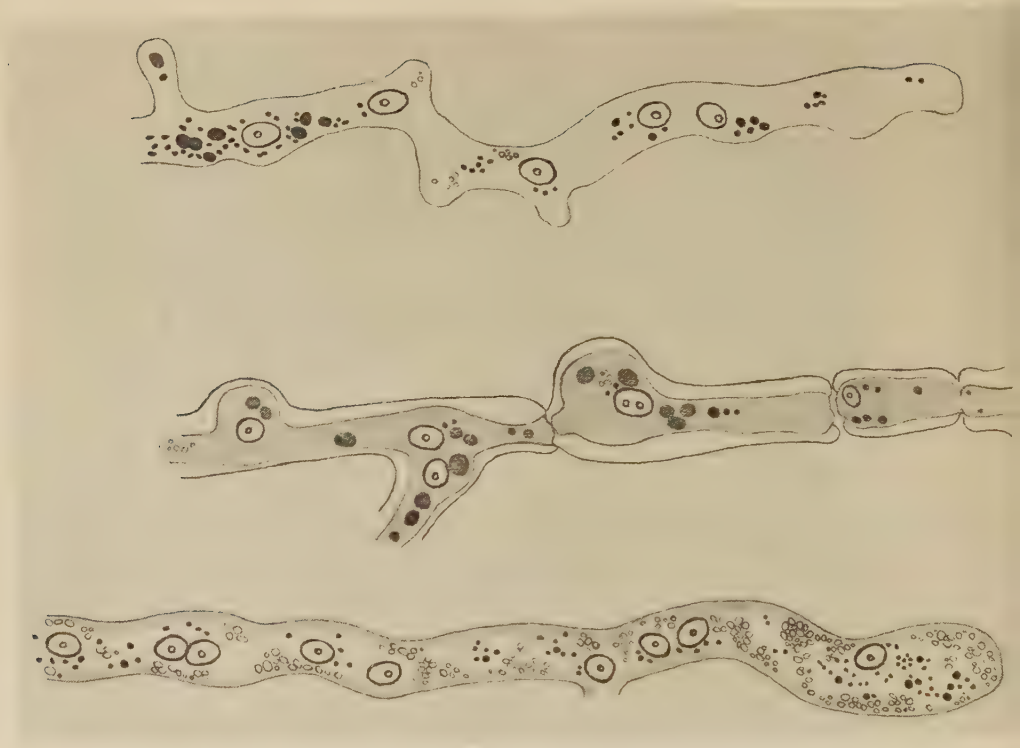


Fig. 1 à 3. — *Allélocystes* (gross. : 500 environ).

Les plastes et mitochondries figurés en noir. Les granulations claires représentent les précipités phénoliques. (Fixation Diétrich-Parat.)

Fig. 1. — *Allélocyste de la tumeur.*

Le cytoplasme contient des mitochondries granuleuses et des plastes de petite taille. On voit des expansions cytoplasmiques qui donneront des cellules nouvelles.

Fig. 2. — *Allélocystes normaux.*

Les noyaux sont beaucoup moins nombreux que dans les allélocystes de la tumeur et les plastes sont plus gros.

Fig. 3. — *Cellule de la partie périphérique de la tumeur contenant de grandes quantités de composés phénoliques précipités dans le cytoplasme.*

Les plastes sont très petits.

PLANCHE III *(suite)*

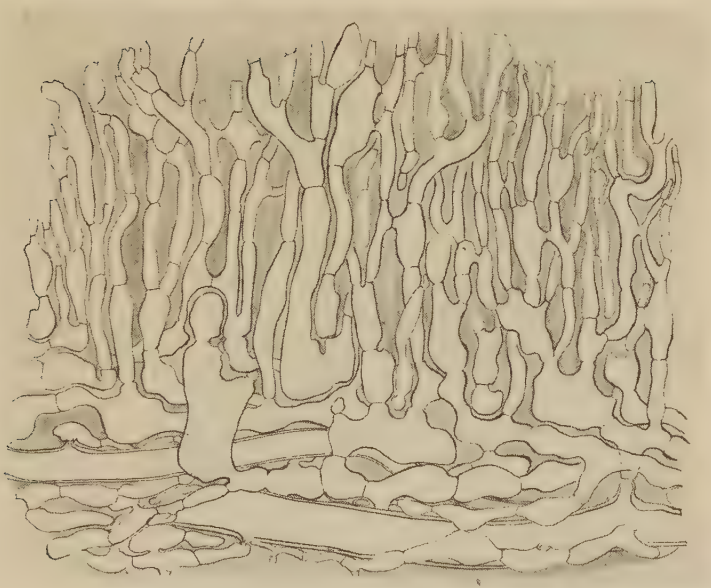


Fig. 4. — *Figure demi-schématique indiquant les rapports de la moelle normale (dans le bas de la figure) chez une tumeur jeune, avec les cellules de la tumeur.*

On voit le changement d'orientation qui caractérise la croissance du tissu infecté. Les bactéries ne sont pas figurées.

(Gross. : 250.)

PLANCHE IV

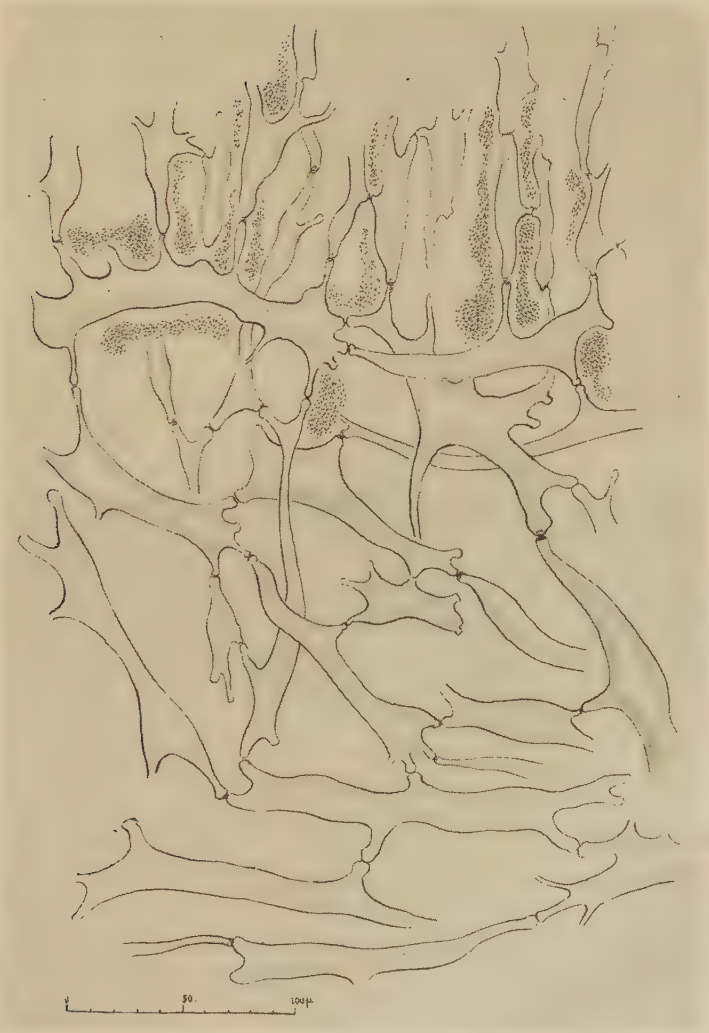


Fig. 1. — *Tissu infecté de Chondrus crispus.*

On voit les rapports des cellules normales des assises profondes (à la partie inférieure de la figure) avec les cellules de la base de la tumeur.

Entre les cellules, dans les substances des membranes, on voit de gros amas bactériens.

ÉTUDE SUR LES SUBSTANCES SOLUBLES SPÉCIFIQUES DES BACILLES DU GROUPE DES SALMONELLOSES

par

D. COMBIESCO, S. STAMATESCO et E. SORU

(Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale et de l'Institut de Sérologie de Bucarest.)

Par l'analyse chimique des antigènes bactériens, on est arrivé à isoler de la cellule microbienne deux groupes de substances : des substances hydrocarbonées ayant la structure des polysaccharides et des substances solubles dans l'alcool qui présentent les propriétés des lipoïdes.

Les substances hydrocarbonées sont spécifiques, « type spécifique », et sont caractérisées par le fait qu'elles réagissent spécifiquement avec les anticorps, mais sont incapables de provoquer la formation de ces anticorps *in vivo*. Zinsser a donné à ces substances le nom de « residual antigens », et elles font partie du groupe des antigènes incomplets, nommés par Landsteiner des « haptènes ».

Les lipoïdes extraits des bactéries ne semblent pas présenter la même spécificité que les substances hydrocarbonées ou les C-substances, nom sous lequel elles sont aussi désignées.

Les substances solubles spécifiques de nature hydrocarbonée extraites des microbes du groupe typho-coli ont fait l'objet d'études de différents savants.

Nous avons voulu étudier comparativement, au point de vue chimique et sérologique, les substances solubles hydrocarbonées isolées de trois espèces microbiennes du groupe des salmonelloses : un bacille paratyphique *B*, un bacille d'Aertrycke et un bacille enteridis Gärtner.

On sait que la distinction entre les bacilles d'Aertrycke et les bacilles paratyphiques *B* est assez délicate, tandis que la distinction entre les bacilles de Gärtner et les bacilles d'Aertrycke est

assez aisée. Les sérums anti-Aertrycke sont à peu près sans action sur le bacille de Gärtner ; de même, les sérums anti-Gärtner n'agglutinent qu'à un titre très bas le bacille d'Aertrycke. Les bacilles d'Aertrycke et les bacilles paratyphiques *B* sont très souvent agglutinés à peu près au même titre par les sérums spécifiques respectifs. Pour mettre un diagnostic précis, il devient nécessaire de recourir à la méthode de saturation des agglutinines (méthode de Castellani).

Nous possédons un bacille d'Aertrycke et un bacille paratyphique *B* qui sont agglutinés au même titre indifféremment par les sérums anti-Aertrycke ou anti-Gärtner. Et dans les expériences que nous présentons, nous avons surtout cherché à voir quelles sont les particularités au point de vue chimique et sérologique des substances solubles hydrocarbonées isolées de ces deux espèces bactériennes, en comparaison avec les substances extraites d'un bacille de Gärtner.

I

Préparation des substances solubles hydrocarbonées.

La technique dont nous nous sommes servis pour isoler les substances solubles spécifiques des germes étudiés a été décrite par P. Bruce White, dans son travail publié dans *Journal of Pathology and Bacteriology*, 1929, XXXII, 85.

Des cultures de vingt-quatre à quarante-huit heures de bacilles paratyphique *B*, d'Aertrycke ou de Gärtner sur gélose, sont émulsionnées dans une solution N/5 d'acide acétique dans du sérum physiologique. Pour la récolte microbienne d'un flacon de cinq litres dont la surface intérieure a été couverte de gélose, on ajoute 300 centimètres cubes de la solution d'acide acétique. L'émulsion microbienne est décantée dans un ballon et chauffée au bain-marie à 100° pendant trois heures, jusqu'à ce qu'on obtienne la coagulation et la sédimentation de la masse microbienne contenue dans l'émulsion. Après refroidissement, on centrifuge les liquides ainsi obtenus et on décante le liquide surnageant, très limpide, mais encore intensément acide. La réaction des liquides est ajustée à pH 7,2-7,4, quand une nouvelle précipitation a lieu. On se débarrasse de ce précipité par filtration. Les liquides limpides obtenus après filtration peuvent servir pour faire des réactions sérologiques. D'habitude, on fait la concentration du principe actif par la précipitation. On peut faire la précipitation avec de

l'acétate de plomb ou de l'alcool. Nous nous sommes servis de l'alcool et nous avons employé trois à quatre volumes d'alcool pour un volume d'extrait. En ajoutant l'alcool, les liquides se troublent immédiatement, puis peu à peu il se forme un précipité très abondant. Nous gardons le mélange à la glacière pendant la nuit, et le lendemain nous le centrifugeons. Cette fois-ci, nous récoltons le dépôt de centrifugation. Ce dépôt est dilué dans 40 à 50 centimètres cubes d'eau physiologique (acidifiée avec de l'acide acétique à un pH 4,5-5) et mis au bain-marie à 100°, pendant trois à quatre minutes. Le précipité protéinique formé cette fois-ci est éloigné par filtration, et le liquide surnageant ajusté à un pH7 est centrifugé de nouveau ou filtré. Le liquide récolté après cette dernière centrifugation contient la substance soluble spécifique (C-substance) des microbes que nous voulons étudier.

II

Etude chimique des substances solubles hydrocarbonées extraites du bacille d'Aertrycke, du bacille paratyphique *B* et du bacille de Gärtner.

1. Les réactions des substances albuminoïdes ont été négatives pour les trois liquides examinés (la réaction du biuret, la réaction à l'acide sulfosalicylique, la réaction de Millon).

La substance extraite du bacille d'Aertrycke renferme encore 0 gr. 028 d'azote pour 100 centimètres cubes de liquide ; celle du paratyphique *B*, 0 gr. 026 d'azote pour 100 centimètres cubes de liquide, et celle du bacille de Gärtner, 0 gr. 022 d'azote pour 100 centimètres cubes de liquide (la méthode micro-Kjeldahl).

2. La réaction de Mollisch a été positive (coloration violette intense) pour les trois liquides, tandis que la réaction de Seliwanoff a été négative.

La réaction à l'orcine chlorhydrique donne une coloration rouge avec une bande d'absorption pour la substance du bacille d'Aertrycke entre *D* et *E*, une bande d'absorption pour la substance du bacille de Gärtner entre *E* et *F* ; dans les mêmes conditions, la substance du bacille paratyphique *B* ne donne aucune bande d'absorption.

Avec la phénylhydrazine, on n'obtient pas d'osazone.

Les réactions pour les substances hydrocarbonées nous ont

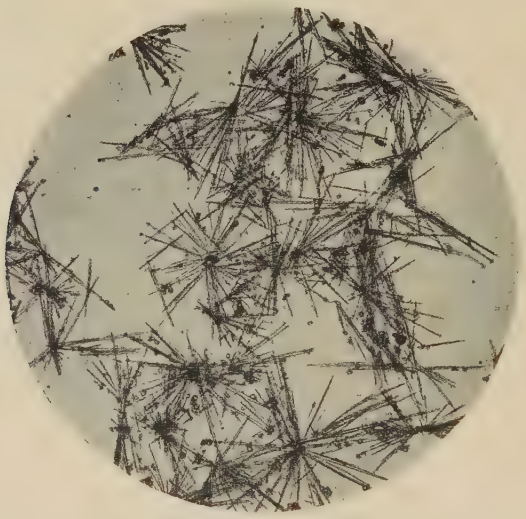


FIG. 1 *a*.

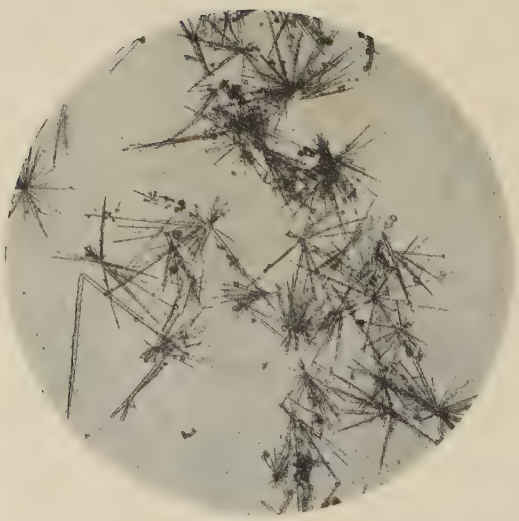


FIG. 1 *b*.

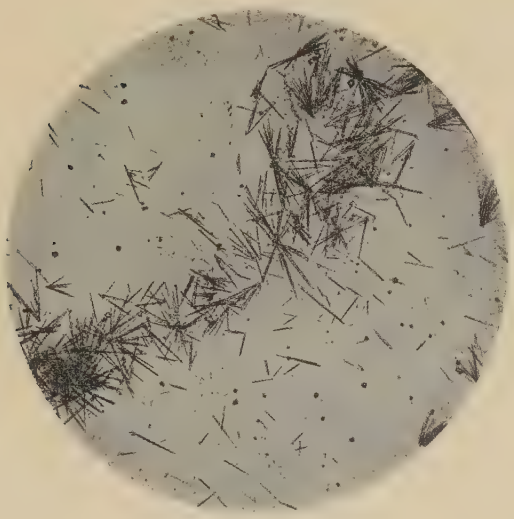


FIG. 2 *a*.

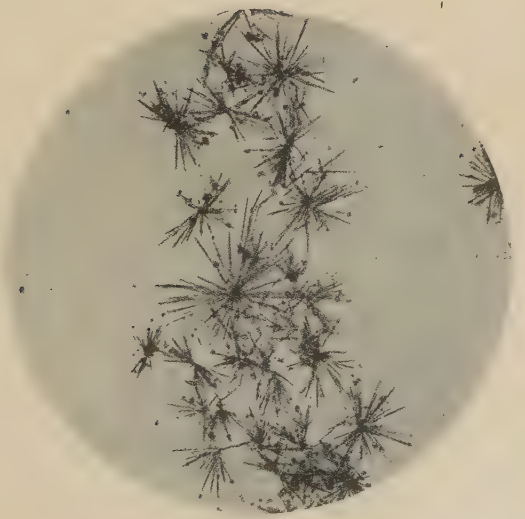


FIG. 2 *b*.

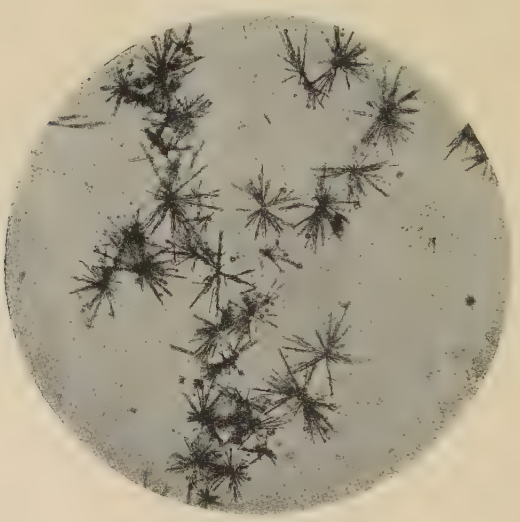


FIG. 3 *a*.

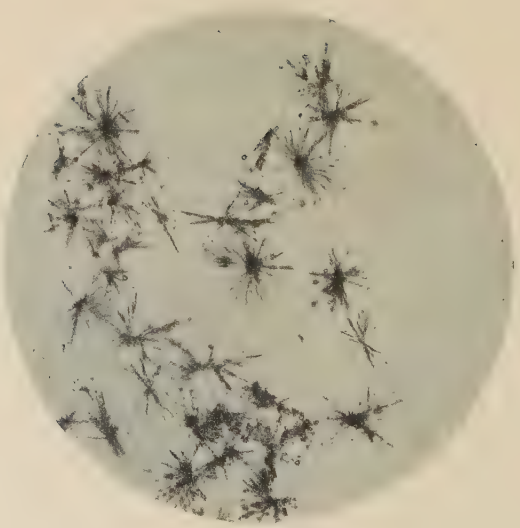


FIG. 3 *b*.

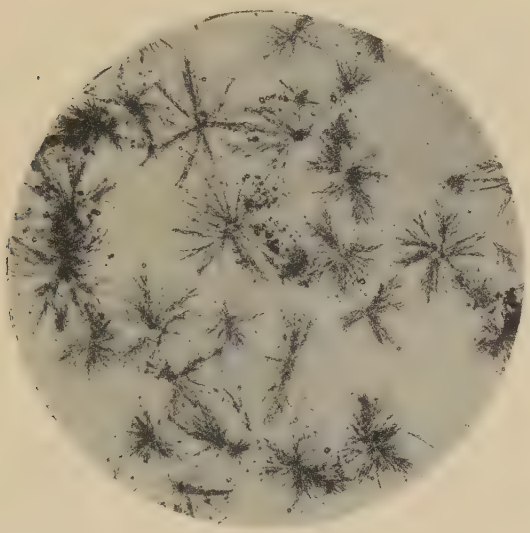


FIG. 4 *a*.

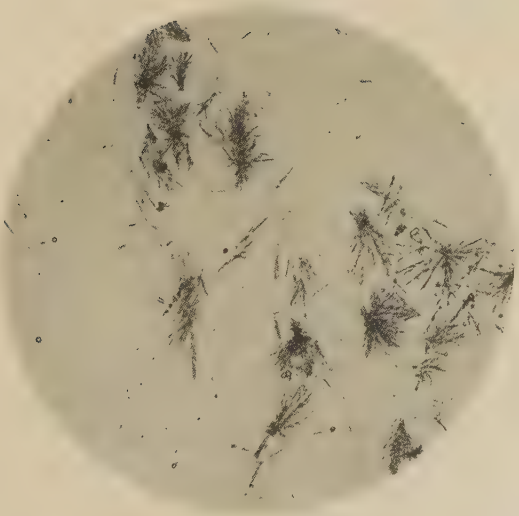


FIG. 4 *b*.

montré l'absence de substance réductrice (réaction de Trommer, Bottger, à la liqueur de Fehling).

3. Pour l'hydrolyse, on ajoute 1 centimètre cube d'acide chlorhydrique normal à 4 centimètres cubes d'extrait, et le mélange est mis trois heures au bain-marie à 100°.

Après l'hydrolyse, la réaction de Fehling et la réaction de Nylander sont positives. Toutes les réactions des substances hydrocarbonées sont positives pour les trois liquides examinés.

Avec la phénylhydrazine, on obtient de très beaux cristaux d'osazone après chauffage d'une heure au bain-marie et refroidissement ultérieur d'une demi-heure. Les cristaux d'osazone ont un aspect un peu différent suivant la substance dont ils dérivent. Les cristaux d'osazone obtenus de la C-substance extraite du bacille d'Aertrycke (fig. 1) sont plus aciculaires, se présentent sous la forme d'aiguilles très fines, qui se terminent en pointe.

Les cristaux d'osazone obtenus de la C-substance extraite du bacille paratyphique *B* (fig. 2) sont plus courts et, tout en étant aciculaires, ils n'ont pas la même netteté, la même simplicité que les cristaux provenant de la C- substance extraite du bacille d'Aertrycke. Enfin les cristaux dérivés de la C-substance du bacille de Gärtner (fig 3) ont un aspect différent, tout en gardant la disposition plus ou moins étoilée des cristaux obtenus du bacille d'Aertrycke et du bacille paratyphique *B* ; ils sont plus touffus, et les aiguilles, au lieu de se terminer en pointe, tendent à prendre l'aspect d'un petit pinceau, sans arriver toutefois à présenter la forme encore plus accentuée en pinceau des cristaux d'osazone obtenus de la C-substance extraite de la bactéridie charbonneuse (fig. 4).

Les substances réductrices, dosées et calculées en glucose, donnent pour 1000 centimètres cubes d'extrait : 1 gr. 34 pour le bacille d'Aertrycke ; 1 gr. 56 pour le bacille paratyphique *B* et 1 gr. 95 pour le bacille de Gärtner (méthodes de Fontès-Thivolle et de Bertrand).

Après hydrolyse, ces substances ont un pouvoir de rotation spécifique : l'indice de déviation est de + 59° pour la C-substance du bacille d'Aertrycke, de + 44° pour celle du bacille paratyphique *B* et de + 30° pour la C-substance du bacille de Gärtner.

Cette étude nous montre que les différences de propriétés chimiques des trois C-substances étudiées sont inappréciables. C'est seulement par l'examen spectroscopique après la réaction à l'orcine chlorhydrique, ou par l'examen des cristaux d'osazone obtenus de ces substances après hydrolyse, que l'on peut observer

des différences assez évidentes. On voit dans les microphotographies présentées que l'aspect des cristaux d'osazone varie d'une substance à l'autre. Le spectre nous donne une bande d'absorption entre *D* et *E* pour le bacille d'Aertrycke, entre *E* et *F* pour le bacille de Gärtner, tandis que nous n'avons aucune bande d'absorption pour le bacille paratyphique *B*.

III

Propriétés biologiques et sérologiques des substances solubles hydrocarbonées isolées du bacille d'Aertrycke, du bacille paratyphique *B* et du bacille de Gärtner.

Avec les extraits de nature hydrocarbonée isolés des microorganismes étudiés, nous avons voulu établir :

a) La toxicité de ces substances pour les cobayes,

b) Si l'on peut créer chez les cobayes une sensibilisation passive pour ces substances en leur inoculant du sérum spécifique dans le péritoine,

c) Les réactions de précipitation faites avec ces substances et les sérums immuns spécifiques obtenus sur les lapins,

d) Si le pouvoir agglutinant des sérums spécifiques obtenus sur les lapins est influencé par la saturation de ces sérums avec la substance hydrocarbonée isolée de chaque bactérie étudiée.

⁂

a) La toxicité des substances hydrocarbonées extraites du bacille d'Aertrycke, du bacille paratyphique *B* et du bacille de Gärtner a été éprouvée sur des souris blanches et des cobayes.

Des souris blanches de 15 à 20 grammes ont été inoculées dans les veines de la queue avec 0 cmc. 25-0 cmc. 5 de cet extrait. Toutes ont résisté sans présenter aucun trouble.

Les cobayes de 200-320 grammes ont reçu dans les veines ou dans l'artère carotide, en injection centrifuge ou en injection centripède, 1 cmc.-2 centimètres cubes d'une de ces substances.

Pour les cobayes, de même que pour les souris, les trois C-substances se sont montrées être privées de toxicité dans les doses employées et par la voie veineuse ou artérielle. Tous les cobayes ont résisté définitivement.

*
**

b) Si les cobayes sensibilisés passivement par une injection intrapéritonéale de sérum anti-Aertrycke, ou antiparatyphique *B*, ou anti-Gärtner, réagissent ou non à une injection intraveineuse de 1 cmc.-2 centimètres cubes de la substance hydrocarbonée respective?

Nous nous sommes servis de cobayes pesant de 200 à 320 grammes.

Les cobayes ont reçu chacun, dans le péritoine, 1 ou 2 centimètres cubes de sérum immun préparé sur des lapins. Trente-six jusqu'à quarante-huit heures après l'injection préparante, les cobayes sont éprouvés par la voie endo-veineuse. Un cobaye de chaque lot reçoit 1 centimètre cube, un autre 2 centimètres cubes de l'extrait hydrocarboné respectif. Aucun cobaye n'a présenté, à l'injection d'épreuve, des phénomènes de choc anaphylactique mortel ou grave.

*
**

c) Dans cette série de recherches faites avec les trois substances hydrocarbonées extraites des microbes cités, nous avons voulu voir si ces substances réagissent *in vitro* en présence des sérums spécifiques.

Le tableau n° 1 nous montre les résultats obtenus dans la réaction de précipitation si nous employons comme antigène une de ces trois C-substances, et comme anticorps le sérum des lapins immunisés avec les microbes correspondants.

Nous pratiquions les réactions de la manière suivante : dans les tubes à précipitation, on met 0 cmc. 2 de sérum; on ajoute ensuite 1 centimètre cube de la solution hydrocarbonée, sans troubler le mélange pour observer l'anneau opalescent se formant éventuellement au contact des deux liquides. Les tubes étaient mis une heure à 54°, puis laissés vingt-quatre heures à la température du laboratoire; on notait ensuite les résultats définitifs. Dans ces conditions, le sérum antibacille d'Aertrycke précipite très bien en présence de la substance soluble extraite du bacille d'Aertrycke. Il ne précipite pas ou très peu (dilution 1 : 5 ou 1 : 10) si l'on remplace, dans la réaction, la substance hydrocarbonée isolée du bacille paratyphique *B* ou du bacille de Gärtner.

Le sérum antiparatyphique *B* précipite en présence de la C-subs-

TABLEAU 1

Substance hydrocarbonée préparée du	Sérum anti-Aertrycke										Sérum antiparatyphique *B*										Sérum anti-Gärtner									
	Antigène (C-Substance) dilué 1 :																													
	1	5	10	25	100	250	500	1.000	5.000		1	5	10	25	100	250	500	1.000	5.000		1	5	10	25	100	250	500	1.000	5.000	
Bacille d'Aertrycke.....	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	−		+	+	+	+	+	+	+	−	−	
	+	+	+	+	+	+	+	−	−		+	+	+	+	+	+	−	−	−		+	+	+	+	+	+	−	−	−	
	+	+	+	+	+	+	−	−	−		+	+	+	+	+	−	−	−	−		+	+	+	+	+	−	−	−	−	
	+	+	+	+	+	−	−	−	−		+	+	+	+	−	−	−	−	−		+	−	+	+	−	−	−	−	−	
Bacille paratyphique *B*.	+	+	+	−	−	−	−	−	−		+	+	+	−	−	−	−	−	−		+	+	+	+	+	−	−	−	−	
	+	+	−	−	−	−	−	−	−		+	+	+	−	−	−	−	−	−		+	+	+	+	−	−	−	−	−	
	+	+	−	−	−	−	−	−	−		+	+	−	−	−	−	−	−	−		+	+	+	−	−	−	−	−	−	
	+	−	−	−	−	−	−	−	−		+	+	−	−	−	−	−	−	−		+	+	−	−	−	−	−	−	−	
Bacille de Gärtner.....	+	−	−	−	−	−	−	−	−		+	−	−	−	−	−	−	−	−		+	+	+	+	+	+	±	−	−	
	−	−	−	−	−	−	−	−	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−		+	+	+	+	+	−	−	−	−	
	−	−	−	−	−	−	−	−	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−		+	+	+	+	−	−	−	−	−	
	−	−	−	−	−	−	−	−	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−		+	+	+	−	−	−	−	−	−	

Réactions de précipitation des sérums spécifiques anti-Aertrycke, antiparatyphique B *et anti-Gärtner, préparés chez les lapins, vis-à-vis des substances hydrocarbonées extraites de ces micro-organismes.*

tance du bacille d'Aertrycke et de celle isolée du bacille paratyphique *B*. La réaction est plus intense avec la C-substance du bacille d'Aertrycke qu'avec la C-substance du bacille paratyphique *B*.

Le sérum antiparatyphique *B* ne précipite pas en présence de la substance extraite du bacille de Gärtner.

Le sérum anti-bacille de Gärtner précipite bien en présence de la substance hydrocarbonée extraite du bacille de Gärtner et du bacille d'Aertrycke, mais plus faiblement avec la C-substance du bacille paratyphique *B*.

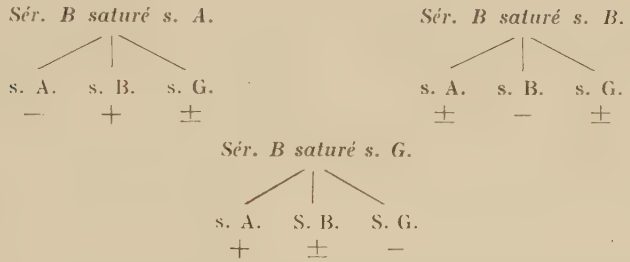
Nous avons appliqué la méthode de saturation des précipitines à l'étude de ces substances pour voir si la multiplicité des précipitines correspond à celle des agglutinines.

Le sérum anti-Aertrycke a été saturé avec la C-substance extraite du bacille d'Aertrycke, ou avec la C-substance extraite du bacille paratyphique *B*, ou avec celle isolée du bacille de Gärtner. La technique suivie a été la suivante : à 1 centimètre cube de sérum anti-Aertrycke, nous ajoutons 5 centimètres cubes de la C-substance isolée du bacille d'Aertrycke. Le mélange est mis une heure à 54°, puis laissé pendant la nuit à la température du laboratoire. On centrifuge et, au liquide obtenu par décantation, on ajoute de nouveau 1 centimètre cube de sérum anti-Aertrycke, on met le système encore une heure à 54°, puis trois heures à la glacière; après quoi, nous centrifugeons de nouveau. Avec les liquides ainsi obtenus, nous exécutons la réaction de précipitation : à 1 centimètre cube de ces liquides, nous ajoutons 0 cmc. 2-0 cmc. 3 de sérum anti-Aertrycke, ou de sérum antiparatyphique *B* ou anti-Gärtner. Les tubes à réaction sont laissés une heure à 54°, et pendant la nuit à la température du laboratoire. Or, dans ces conditions, la C-substance Aertrycke saturée par le sérum anti-Aertrycke ne précipite plus en contact de ce même sérum, mais cette substance précipite très bien en présence du sérum anti-Gärtner ou antiparatyphique *B*. Le sérum anti-Aertrycke saturé avec la C-substance extraite du bacille paratyphique *B* précipite très bien au contact de la C-substance isolée du bacille d'Aertrycke. La C-substance extraite du bacille de Gärtner n'influence pas les propriétés précipitantes du sérum anti-Aertrycke.

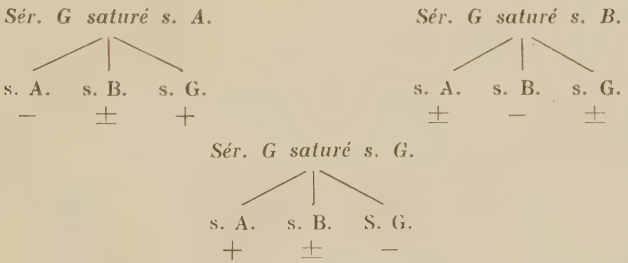
Le sérum antiparatyphique *B* a été soumis au même traitement que le sérum anti-Aertrycke, c'est-à-dire il a été saturé soit avec la C-substance-Aertrycke, soit avec la C-substance du bacille paratyphique *B* ou celle du bacille de Gärtner.

Pour la facilité de l'exposition, la C-substance isolée du bacille

d'Aertrycke sera notée *sA* ; celle du bacille paratyphique *B* : *sB*; et *sG*. celle isolée du bacille de Gärtner. Le sérum anti-Aertrycke sera noté sér. *A*., le sérum antiparatyphique *B*, sér. *B*.; et le sérum anti-Gärtner, sér. *G*. Et alors les résultats des réactions de précipitation du sérum antiparatyphique *B* saturé avec les différentes substances hydrocarbonées étudiées seront représentées schématiquement comme il suit :



Le sérum anti-Gärtner, dans les mêmes conditions, donne les résultats qui peuvent être représentés schématiquement par les formules suivantes :



Ces expériences tendent à nous montrer que dans les extraits des bacilles étudiés existeraient deux substances solubles spécifiques : une substance hydrocarbonée qui donne des réactions de groupe communes à ces trois microbes, et une autre substance de même nature, spécifique pour chaque microbe.

*
**

d) *Le pouvoir agglutinant des sérums obtenus sur les lapins avec les trois micro-organismes étudiés est influencé par la saturation de ces sérums avec la substance hydrocarbonée isolée de chacun d'eux.*

TABLEAU II

Micro-organismes étudiés	Sérum anti-Aertrycke						Sérum antiparatyphique *B*						Sérum anti-Gärtner					
	Dilution des Sérums :																	
	10	100	1.000	5.000	10.000	20.000	10	100	1.000	5.000	10.000	20.000	10	100	1.000	5.000	10.000	20.000
Bacille d'Aertrycke	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−
Bacille paratyphique *B*.	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−
Bacille de Gärtner.	+	−	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−	+	+	+	+	+	−
	+	+	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+
	+	+	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	−	−	−	+	+	+	−	−	−	+	+	+	+	+	+

Réaction d'agglutination du bacille d'Aertrycke, du bacille paratyphique B *et du bacille de Gärtner avec les sérums spécifiques préparés chez le lapin.*

TABLEAU III

Micro-organismes étudiés	Sérum antibacille d'Aertrycke saturé avec : La C-substance du bacille d'Aertrycke — Dilution des Sérums 1 : 10	100	1.000	5.000	10.000	20.000	La C-substance du bacille paratyphique *B* — 10	100	1.000	5.000	10.000	20.000	La C-substance du bacille de Gartner — 10	100	1.000	5.000	10.000	20.000
Bacille d'Aertrycke	+	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+	+
	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+
Bacille paratyphique *B*..	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—
	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—
	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
Bacille de Gärtner.	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
	+	+	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
	+	+	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
	+	+	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—

Réactions d'agglutination du bacille d'Aertrycke, du bacille paratyphique B *et du bacille de Gärtner avec le sérum antibacille d'Aertrycke adsorbé avec les C-substances extraites de ces trois germes.*

TABLEAU IV

Micro-organismes étudiés	Sérum antibacille paratyphique *B* saturé avec : La C-substance du bacille d'Aertrycke — Dilutions du Sérum 1 : 10	100	1.000	5.000	10.000	20.000	La C-substance du bacille paratyphique *B* — Dilutions du Sérum 1 : 10	100	1.000	5.000	10.000	20.000	La C-substance du bacille de Gärtner — Dilutions du Sérum 1 : 10	100	1.000	5.000	10.000	20.000
Bacille d'Aertrycke	++++	++++	+++	+	—	—	++++	++++	++++	++++	—	—	++++	++++	++++	++++	—	—
Bacille paratyphique *B*	++++	++++	++++	++++	+	+	++++	++++	+	—	—	—	++++	++++	++++	++++	++++	+
Bacille de Gärtner	++++	++++	+	—	—	—	++++	++++	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—

Réactions d'agglutination du bacille d'Aertrycke, du bacille paratyphique B *et du bacille de Gärtner avec le sérum antibacille paratyphique* B *adsorbé avec les C-substances extraites de ces trois germes.*

TABLEAU V

Micro-organismes étudiés	Sérum antibacille de Gärtner saturé avec : La C-substance du bacille d'Aertrycke — Dilutions du Sérum 1 : 10	100	1.000	5.000	10.000	20.000	La C-substance du bacille paratyphique B — 10	100	1.000	5.000	10.000	20.000	La C-substance du bacille de Gärtner — 10	100	1.000	5.000	10.000	20.000
Bacille d'Aertrycke	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bacille paratyphique *B*..	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
Bacille de Gärtner.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Réactions d'agglutination du bacille d'Aertrycke, du bacille paratyphique B *et du bacille de Gärtner avec le sérum antibacille de Gärtner adsorbé avec les C-substances extraites de ces trois germes.*

Le tableau n° 2 donne le titre agglutinant des trois sérums étudiés (sérum anti-Aertrycke, sérum antiparatyphique *B* et sérum anti-Gärtner) vis-à-vis des trois micro-organismes respectifs.

On voit d'après ce tableau que le sérum anti-Aertrycke et le sérum antiparatyphique B agglutinent jusqu'à la limite supérieure du titre aussi bien le bacille d'Aertrycke que le bacille paratyphique *B*. En même temps, ces sérums ont une action très faible sur le bacille de Gärtner.

Le sérum anti-Gärtner n'agglutine pas le bacille d'Aertrycke et le bacille paratyphique *B*.

Chacun de ces trois sérums spécifiques a été saturé d'après la méthode de Castellani soit avec la substance hydrocarbonée correspondante, soit avec la substance hydrocarbonée extraite des autres germes. La technique suivie a été décrite plus haut (au paragraphe *c*).

Avec les sérums saturés, nous avons exécuté de nouveau les réactions d'agglutination vis-à-vis des trois bacilles étudiés.

Les tableaux n^{os} 3, 4 et 5 donnent les résultats de ces expériences. On voit que le pouvoir agglutinant des sérums est influencé spécifiquement par la saturation avec la substance hydrocarbonée correspondante. Les réactions croisées nous ont donné les mêmes résultats que ceux que nous avons obtenus dans l'étude des précipitines. La saturation avec la substance hydrocarbonée correspondante diminue non seulement le pouvoir précipitant d'un sérum, mais aussi le pouvoir agglutinant, et cette diminution est spécifique.

CONCLUSIONS

Nous avons extrait des cultures du bacille d'Aertrycke, du bacille paratyphique *B* et du bacille de Gärtner une substance hydrosoluble ayant les propriétés du polysaccharide obtenu par Dochez et Avery, Avery et Heidelberger du pneumocoque.

Nous avons décrit les propriétés biochimiques de ces substances et, parmi ces propriétés, nous avons insisté sur la différence que présentent les trois substances étudiées à l'aide du spectroscope après la réaction à l'orcine chlorhydrique, ou à l'examen des cristaux d'osazone obtenus après l'hydrolyse. Le spectre nous montre une bande d'absorption entre *D* et *E* pour le bacille d'Aertrycke, entre *E* et *F* pour le bacille de Gärtner,

tandis que nous n'avons aucune bande d'absorption pour le bacille paratyphique *B*. L'aspect des cristaux d'osazone varie d'une substance à l'autre.

Ces trois substances hydrocarbonées ne sont pas toxiques pour les souris blanches et pour les cobayes si elles sont injectées par voie endoveineuse ou endo-artérielle.

Les cobayes qui ont reçu dans le péritoine du sérum antibacille d'Aertrycke, ou antibacille paratyphique *B*, ou antibacille de Gärtner ne réagissent pas si, trente-six ou quarante-huit heures plus tard, ils sont injectés dans les veines avec 1 ou 2 centimètres cubes de substances hydrocarbonées correspondantes.

Ces substances précipitent en présence des sérums spécifiques.

Avec la méthode de Castellani, ces substances se comportent comme si dans les extraits des germes étudiés existaient deux substances solubles spécifiques : une substance hydrocarbonée, qui donne des réactions de groupe, et une substance hydrocarbonée, spécifique pour chaque bacille.

Le pouvoir agglutinant des sérums spécifiques est influencé spécifiquement par la saturation avec la substance hydrocarbonée correspondante. La saturation avec la substance correspondante diminue et le pouvoir agglutinant et le pouvoir précipitant.

BIBLIOGRAPHIE

1. Casper (W.) : *Zeitschr. Hyg.*, 1928, CIX, 170.
2. Combiesco (D.) et Stamatesco (S.) : *C. R. Soc. de Biol.*, 1929, CII, 137.
3. Combiesco (D.), Soru (E.) et Stamatesco (S.) : *C. R. Soc. de Biologie*, 1929, CIII, 185.
4. Ecker (E.-E.) and Rimington (C.) : *Journ. of Hyg.*, 1927, XXVII, 44.
5. Happold (F.-Ch.) : *Journ. of Pathology and Bact.*, 1928, XXXI, 237.
6. Heidelberger (M.), Schwartzman (G.) and Cohn (D.-J.) : *Journ. Biol. Chem.*, 1928, LXXVIII, 76
7. Krumwiede (C.), Cooper (G.) and Provost : *Journ. Immunology*, 1925, X, 55.
8. Furth (J.) and Landsteiner (K.) : *Journ. Exper. Med.*, 1929, XLIX, 727.
9. White (P.-B.) : *Journ. of Pathology and Bact.*, 1929, XXXII, 85.

IMMUNITÉ DANS LE PALUDISME EXPÉRIMENTAL

par

M. CIUCA, L. BALLIF et M. VIERU

Si tous les malariologistes sont d'accord qu'il n'existe qu'exceptionnellement un état de résistance naturelle au paludisme, la plupart des cliniciens ont observé un certain degré d'immunité chez nombre d'individus qui ont subi une ou plusieurs attaques de cette maladie.

L'immunité de race soutenue par Pringle, Baudin et par de nombreux savants de l'école de malariologie de l'Inde ne résiste pas à une sévère critique scientifique. Laveran avait démontré que l'immunité des nègres n'est pas absolue; il faut chercher l'explication de l'immunité en Afrique, dans l'Inde, comme dans les pays malariques de l'ancien continent, dans une immunité acquise à la suite d'une ou plusieurs infections contractées d'habitude pendant l'enfance.

Koch, Stephens et Christophers, James, avaient remarqué dans les pays à endémie malarique la différence entre la réceptivité au paludisme des enfants tout jeunes et la résistance des grands enfants et des adultes. L'examen de 31.459 personnes permet à Bass de constater que, dans les pays malariques, 44,91 % ne font pas d'accès; cependant, il arrive que, dans certaines périodes, les trois quarts de la population d'une région hyperendémique souffrent du paludisme.

Cette résistance acquise des aborigènes, dans un pays malarique, dont le mécanisme nous est encore inconnu, est plutôt comparable à un état d'équilibre entre l'organisme envahi et une souche locale du parasite : l'importation avec les immigrants d'une nouvelle souche de parasite appartenant à un des trois types de parasites a vite rompu cet équilibre; les épidémies foudroyantes de paludisme dans l'armée de Salonique pendant la guerre, les vagues d'épidémies mortelles en Grèce et en Asie Mineure parmi les réfugiés grecs et turcs à l'occasion de l'échange de populations, l'intensité de l'incidence paludéenne parmi les ouvriers de la plaine mala-

ARCH. ROUM. DE PATHOL. EXPÉR., T. III, N° 2, JUIN 1930.

rique qui cherchent du travail dans les régions hyperendémiques des collines dans l'Inde, constituent des exemples d'autant plus démonstratifs que les populations aborigènes, tout en présentant un indice splénique de 90 à 100 %, conservent un assez bon état général, malgré une grosse rate, qui dépasse assez souvent le numéro 3 d'après le schéma de Schüffner.

Christophers, en étudiant le mécanisme de l'immunité dans les régions hyperendémiques, confirme les données de Schüffner sur l'évolution de cette immunité. Dans ces régions, il existe un état continuel d'infection intense dans les premières années de la vie (10.000 parasites par millimètre cube), ce qui provoque une forte mortalité infantile. Cette phase d'infection aiguë est suivie d'un état d'immunité, de prémunition avec des rates moyennes d'après Ed. Sergent, Parrot et Donatien. Dans la période de temps qui s'ensuit, trois années après la naissance ou après trois années de résidence, le nombre de parasites est plus réduit (100 pour 1 millimètre cube); un état d'immunité acquise s'établit, à laquelle les individus doivent leur vie dans les régions hyperendémiques.

Cette immunité acquise, spontanée, ne s'établit, bien entendu, qu'avec de gros sacrifices de vies humaines et ne peut constituer une méthode de prophylaxie, d'autant plus que dans les pays malariques, où l'usage de la quinine est très répandu, cette immunité existe même en l'absence d'une grosse rate ou de phénomènes d'infection chronique.

Avant l'introduction de la malariathérapie dans le traitement des paralytiques généraux, qui devait apporter des précisions à l'étude de la biologie du parasite et de l'évolution de l'infection, Marchoux (1898) avait démontré par l'inoculation intraveineuse de sang virulent que l'immunité des nègres de l'Afrique est *réelle*: deux individus qui avaient reçu 10 centimètres cubes de sang virulent n'ont présenté ni accès ni parasites dans la circulation générale. Ziemann, cependant, en 1900, a réussi à provoquer la maladie dans cinq cas sur sept considérés comme jouissant de l'immunité. Van Loon et Kirschner, dans les Indes néerlandaises, constatent que les indigènes sont relativement réfractaires à l'infection malarique expérimentale. L'intervention du type du parasite dans l'immunité malarique n'avait pas échappé aux savants malariologistes. D'après Marchoux, les nègres de la côte occidentales de l'Afrique présentent une résistance à la tierce maligne, tandis que, pour le colonel Gill, la périodicité des vagues épidémiques du Pendjab serait due à une moindre persistance de l'immunité vis-à-vis de la tierce bénigne. Le mécanisme inconnu de

l'immunité serait dû une phagocytose intense des parasites, d'après Tagliaferro et Ben Harel, ou à une formation temporaire d'anticorps (Bose, Abrami, Sévenet et Carnot, Thomson, Horowitz, Wlassow, Saxtchenko et Boronoff, Blasi et Henry, ces derniers cités par Bourdelles, Liégeois et Chabrelie). Les recherches de Moldovan et de Whitemore sur l'immunité chez les oiseaux confirment celles des frères Sergent, qui attribuent cette prémunition à la présence d'un parasitisme latent, facile à mettre en évidence par l'inoculation du sang à des canaris normaux.

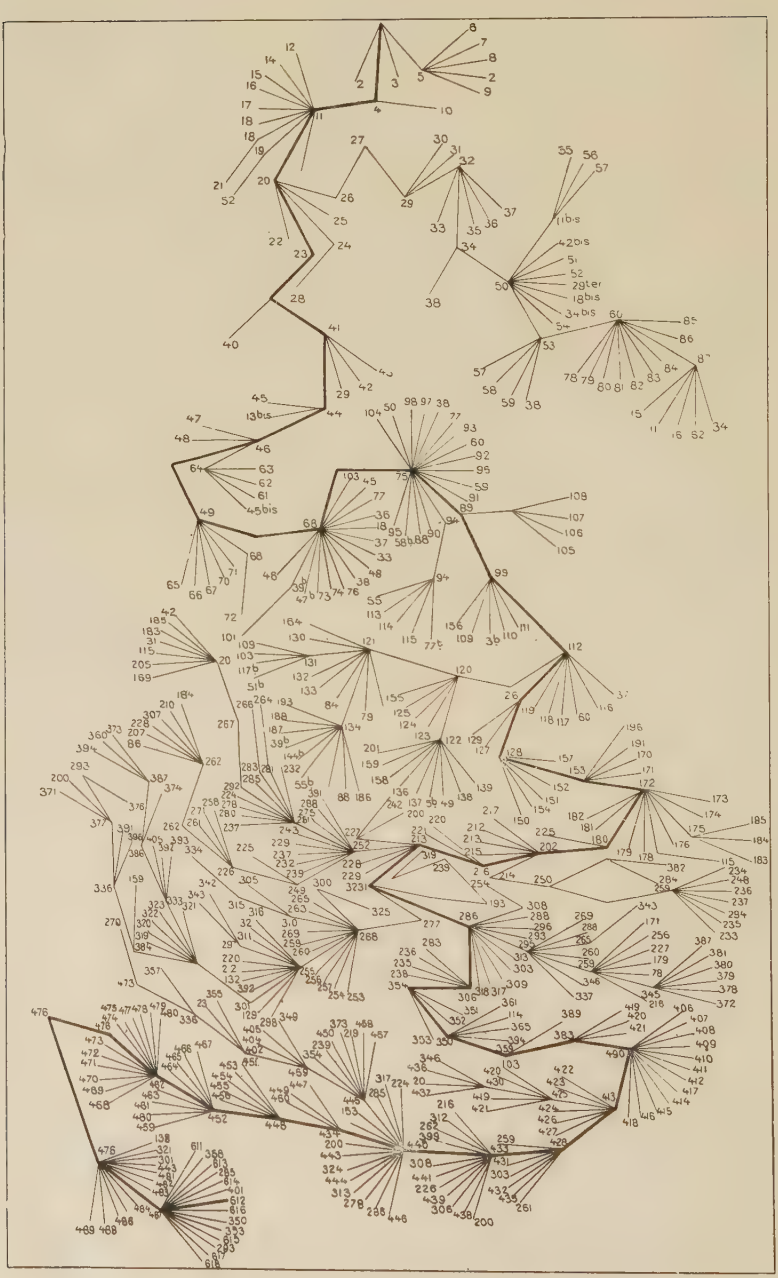
Reichenow attire l'attention sur la différence de virulence chez les canaris entre une infection naturelle légère et la gravité d'une infection artificielle avec du sang virulent. On ne constate pas de phénomène analogue dans le paludisme humain.

L'infection paludéenne artificielle utilisée dans le traitement de la paralysie générale et réalisée par piqûres de moustiques infectés ou par inoculation de sang virulent, apporte, dans différents pays malariques ou non malariques, des contributions assez intéressantes à l'étude de cette question.

Les recherches, d'une grande valeur scientifique, de James et Shute dans le paludisme expérimental par piqûres de moustiques infectés montrent que le pourcentage des inoculations négatives est de 24,8 % en Angleterre. Ces savants estiment que l'insuccès de l'infection est dû « à des raisons techniques plutôt que biologiques ».

Si l'on compare le pourcentage de résultats positifs après inoculation de sang virulent en Allemagne — 94 à 95 % de résultats positifs d'après Gerstmann, 90 % pour Kirschbaum, un pourcentage égal de succès obtenus par Kirschner, Mühlens et Kirschbaum — avec le pourcentage de résultats positifs obtenus par le colonel James et Shute (1) par piqûres de moustiques, et les résultats obtenus en Roumanie par C. Ionescu, d'une part, M. Ciuca, Ballif, Vieru et Stirbu, d'autre part, on ne peut pas ne pas être frappé par le contraste de ces résultats et ne pas chercher les causes de ces variations. Le colonel James avait démontré que trois malades qui avaient résisté à plusieurs inoculations de sang virulent avec une souche de *Plasmodium vivax* n'étaient pas immunisés contre une nouvelle souche de *Plasmodium vivax* introduite par piqûre de moustiques. Ce savant constate d'ailleurs que « le caractère

(1) Publications de l'Organisation d'hygiène de la Société des Nations : C. H. Malaria, 57.



clinique d'une seconde infection est entièrement différent de celui d'une première ».

Nous croyons utile d'exposer nos recherches faites sur des paralytiques généraux ou autres malades atteints d'affections nerveuses soumis à l'infection malarique à l'hôpital Socola de Jassy, dans le but de traitement. Dans un mémoire préliminaire (1) et dans une note (2) publiée dans les *Comptes rendus de la Société de Biologie,* nous présentions nos observations s'étendant sur une période de deux années, sur 297 cas d'infection artificielle et sur un nombre de transfusions de sang virulent faites chez des paralytiques généraux qui avaient résisté à une ou plusieurs infections artificielles.

Nous avons continué nos essais pendant les deux dernières années. Sur un nombre total de 518 malades, un nombre de 200 sont en observation depuis plus de quatre ans.

TECHNIQUE

TIERCE BÉNIGNE

Des recherches antérieures ayant montré le nombre réduit d'inoculations positives avec du sang virulent de tierce bénigne dans les pays malariques, nous avons tâché d'inoculer, *avec un même passage,* des groupes de paralytiques variant de deux à dix-sept individus. *Le choix des malades* était fait de manière à inoculer dans les mêmes conditions des individus sans antécédents malariques et des individus à antécédents malariques variés : anciens malades guéris spontanément ou après traitement, des individus résistant soit spontanément, soit à la suite d'une ou plusieurs inoculations de sang virulent. La photo n° 1 montre le dispositif général de ces inoculations faites sur 390 malades. Le sang virulent citraté ou non citraté était inoculé par voie sous-cutanée et intramusculaire, par voie intramusculaire, par voie endoveineuse ou intrarachidienne. La quantité de sang virulent inoculée variait de 0,5 à 10 centimètres cubes. Dans les transfusions, la quantité variait de 65 à 220 centimètres cubes. Les malades appartenant au même groupe étaient toujours inoculés strictement dans les mêmes conditions.

(1) *Archives Roumaines de Pathologie expérimentale et de Microbiologie.*
(2) *Comptes rendus de la Société de Biologie,* t. CII, p. 189.

L'examen du sang était pratiqué journellement, et l'apparition de tout mouvement fébrile ou d'accès était marqué. Après l'apparition des parasites, les prises de sang étaient espacées de trois à cinq jours, excepté pour les malades soumis à un traitement; dans ce dernier cas, on pratiquait l'examen journalier du sang jusqu'à la disparition des parasites de la circulation générale. Tous les malades qui prenaient l'infection et qui ne présentaient aucune tendance à la guérison spontanée étaient soumis à un *traitement intensif* avec une des substances médicamenteuses que nous expérimentons actuellement : quinine, quinetus d'Amsterdam, cinchona fébrifuge *A* et *B*, plasmoquine pure, plasmoquine composée, quinio-stovarsol.

Le contrôle de l'*efficacité du traitement* et de la guérison des malades était fait par des essais de *mobilisation du parasite* : bain chaud, rayons *X*, adrénaline, lait, vaccin *TAB*, corps lavés de typhiques tués à 59° dans la veine, nucléinate de soude, etc. Dans des cas plus rares, on contrôlait la stérilité du sang par injection de grandes quantités de sang à des individus nouveaux. *La dernière méthode est la méthode de choix pour nous rendre compte de la stérilité du sang d'un ancien malarique à examens négatifs du sang répétés* (à condition de ne pas tomber sur un résistant). Les malades qui ne prenaient pas l'infection, — absence de phénomènes morbides et de parasites dans la circulation générale, — ainsi que ceux qui avaient été soumis à un traitement intensif, étaient réinoculés plusieurs fois avec du sang virulent de la même souche de tierce bénigne dans les conditions citées ci-dessus.

L'intervalle des inoculations répétées était en moyenne de trois mois à un an chez les malades qui avaient présenté de la fièvre et des parasites dans la circulation générale; il était approximativement de deux mois chez les malades résistant à l'infection. Parmi ces derniers, il y en a qui ont reçu jusqu'à quatre, cinq et même six inoculations.

Les malades résistant spontanément ou à la suite de plusieurs inoculations de sang virulent de tierce étaient soumis à une *transfusion de sang virulent (60 à 220 centimètres cubes) très parasité*, provenant d'un malade du même groupe sérologique en plein accès ou sans fièvre, infection provoquée par la même souche de *Plasmodium vivax* (généralement de passages différents). Dans tous les cas de transfusion, les prises de sang étaient faites avant et immédiatement après et à des intervalles très réduits, au moins pendant les cinq heures suivant la transfusion. On marquait en même temps tous les symptômes de choc, *très fréquents*, même

après les transfusions de sang normal provenant d'un individu de groupe sérologique semblable. L'examen journalier du sang était fait régulièrement au moins pendant la durée correspondant à l'incubation. Trente malades résistant à une ou plusieurs infections de tierce bénigne, appartenant à une même souche de *Plasmodium vivax*, ont été inoculés avec une nouvelle souche de *Plasmodium vivax* qui n'avaient subi aucun passage.

FIÈVRE QUARTE

Nous avons procédé d'une manière tout à fait pareille dans 148 cas de paralysie générale en inoculant *du sang virulent de fièvre quarte* (premier passage-quatorzième passage). Les malades inoculés — soit sans antécédents, soit avec antécédents malariques — résistant à une ou plusieurs infections de tierce, malades à inoculations positives traités ou guéris spontanément, étaient préalablement soumis à une ou plusieurs épreuves considérées comme effectives pour la mobilisation du parasitisme latent. Les malades résistant à une inoculation de quarte (à peine 20 %) étaient soumis à une ou plusieurs inoculations de sang virulent de la même souche de parasite de différents passages. Le contrôle de l'immunité était fait par transfusion de sang virulent. L'observation des malades et les prises de sang étaient prolongées en rapport avec la durée de l'incubation dans la fièvre quarte et les multiples récidives possibles dans cette infection.

Les groupes de malades inoculés étaient faits de manière à pouvoir nous rendre compte d'une part de la résistance vis-à-vis du même type de parasite, et de l'immunité croisée avec la tierce bénigne, d'autre part.

FIÈVRE ESTIVO-AUTOMNALE

La même technique a été utilisée dans cinquante cas d'infection artificielle de *tropica* réservée uniquement aux individus résistant à des infections répétées de tierce bénigne ou de fièvre quarte. Deux transfusions de sang virulent ont été exécutées dans les mêmes conditions.

OBSERVATIONS SUR L'INFECTION ARTIFICIELLE DE TIERCE BÉNIGNE

Nos observations ont été recueillies sur 390 sujets soumis aux inoculations de sang virulent de tierce bénigne (du premier au quarante-troisième passage).

Comme nous l'avions constaté dans notre travail antérieur, la voie d'inoculation du sang virulent ne constituait pas un facteur de variation, autant pour le pourcentage des résultats positifs que pour la durée de l'incubation. Nous rappelons que le pourcentage d'inoculations positives était de 58,5 % par voie sous-cutanée et intramusculaire, de 54,8 % par voie intramusculaire, de 40 % par voie endoveineuse et de 43 % par voie rachidienne.

La quantité de sang inoculé (0,5 à 10 centimètres cubes) était également indifférente quant à la durée de l'incubation ou l'efficacité de l'infection. Cette incubation variait de cinq à seize jours. Les résultats des inoculations faites dans les conditions expérimentales citées plus haut ne montrent pas une diminution appréciable de la virulence du parasite, au moins pendant les quarante-trois premiers passages (pourcentage comparable d'infections positives, incubation et évolution pareilles). Nous pouvons répartir nos 390 sujets en trois groupes au point de vue antécédents malariques : 354 recevant pour la première fois une inoculation de sang virulent; 31 étant d'anciens malariques (informations des malades, sans grosse rate); 5 ayant reçu une inoculation de sang virulent quelque temps auparavant.

On peut lire les résultats des inoculations dans le tableau suivant, où les accès et les parasites sont désignés par A et P, l'absence d'accès ou de parasite par (o) et la présence par (+).

TABLEAU I

Première inoculation de tierce bénigne

		Résultats de la première inoculation :					
(Nombre total des malades inoculés : 390)		A+P+	%	AoP+	%	AoPo	%
Inoculés pour la première fois	354	184	53,3	64	18,6	97	28,1
Anciens malariques	31	10	33 2	10	33.2	11	33,6
Inoculés antérieurement	5	0	0	1	20	4	80

Il résulte de ce tableau que le *pourcentage d'infections positives avec accès et parasites (A+P+) est de 53,3 % parmi les individus*

sans antécédents malariques, contre 33,2 % parmi les anciens malariques, et de 0 parmi ceux qui avaient reçu une inoculation antérieure.

Le pourcentage des sujets inoculés n'ayant présenté que temporairement des parasites dans la circulation générale (A o P +), sans fièvre ni autres symptômes morbides, est de 18,6 à 33,2 %.

L'apparition des parasites dans ces cas avait lieu dans les intervalles normaux de l'incubation dans 95 % des cas (ce qui n'arrive pas tout aussi régulièrement pour la fièvre quarte).

L'influence saisonnière sur le pourcentage des inoculations positives a été nulle; la période d'incubation était de cinq à seize jours.

Deuxième inoculation de tierce bénigne

Sur les 390 malades, 105 ont été soumis, de trois à six mois après, à une seconde inoculation de la même souche de *Plasmodium vivax* de différents passages. Sur ces 105 malades, 33 n'avaient pas pris une première infection (A o P o); 28 avaient présenté temporairement des parasites et avaient guéri spontanément (sans aucun traitement); sur les 44 sujets qui avaient pris une infection positive à la première inoculation, 25 avaient subi un traitement intensif, tandis que 19 se sont débarrassés spontanément de la fièvre et des parasites après un nombre réduit d'accès.

Tous ces malades étaient soumis, avant la seconde inoculation, à une ou plusieurs épreuves de mobilisation du parasite. La lecture du tableau n° 2 permettra de nous rendre compte de l'évolution de cette deuxième inoculation en rapport avec l'inoculation antérieure.

TABLEAU II

			Résultats de la deuxième inoculation :					
Nombre total des malades : 105)			A+P+	%	AoP+	%	AoPo	%
Résultats de la première inoculation :								
44 A+P+	Traités	25	8	32	9	35,9	8	32
	Non traités	19	3	16,2	1	5	15	78,8
28 A o P+			0		8	28	20	71,4
33 A o P o			1	3,03	2	6,06	30	90,9

On ne peut pas ne pas être frappé par les résultats de la deuxième inoculation, qui compte 90,9 *% d'infections négatives* (A o P o) *parmi les personnes ayant résisté à une première ino-*

culation, et 32,2 % *seulement parmi les sujets soumis à un traitement intensif après une première inoculation positive.* Ce pourcentage est par contre de 78,8% parmi les malades qui présentaient une certaine résistance contre le parasite, insuffisante pour éviter une première infection, capable cependant de débarrasser l'organisme du parasite sans aucun traitement. Nous constatons que cette résistance a augmenté après la première inoculation guérie spontanément. Cette supposition est confirmée également par *le pourcentage d'inoculations négatives* (71,4 %) *parmi les* 28 *malades qui n'étaient que porteurs temporaires de parasites après la première inoculation.*

Troisième inoculation de tierce bénigne

Avant de procéder à la troisième inoculation de tierce bénigne, pratiquée sur un total de 29 malades, nous avons essayé — par les moyens que les recherches sur la mobilisation mettent à notre disposition — de déceler (?) le parasitisme latent.

Nos 29 malades se répartissent de la manière suivante d'après les résultats de la seconde inoculation.

TABLEAU III

	Résultats de la troisième inoculation :				
(Nombre total des malades : 28)	A+P+	AoP+	°/₀	AoPo	°/₀
Résultats de la deuxième inoculation :					
5 A+P+ (tous non traités).....	0	1	20	4	80
6 AoP+.....	0	2	33,3	4	66,6
17 AoPo.....	0	0	0	17	100

Les chiffres du tableau n° 3 confirment l'augmentation de résistance — de l'*immunité acquise* — illustrée par le pourcentage nul d'infections positives (A+P+). Ce même tableau montre également que, parmi les porteurs de parasites débarrassés spontanément, 33,3 % redeviennent porteurs à la suite d'une troisième inoculation, ce pourcentage n'étant que de 20 % parmi les sujets ayant fait une seconde infection et guéris spontanément sans aucun traitement.

Y a-t-il des malades qui, après une ou deux inoculations négatives, puissent avoir une inoculation positive, un fléchissement donc de cette résistance en un espace de deux à trois ans ? *Sur les 105 malades ayant reçu deux inoculations, 2 malades (2 %)* (Moc... et Vic...) *ayant une première inoculation négative ont pris*

l'infection après la deuxième inoculation; dans les deux cas, nous avons assisté à une guérison spontanée sans traitement. Les deux malades n'ont pas pris une troisième infection de tierce.

Troisième inoculation

Ont été inoculés quatre malades ayant résisté à une ou plusieurs inoculations antérieures de tierce bénigne (A o P o). *Tous les quatre* (A o P o — 100 %) *ont résisté à l'infection.*

Il résulte de ces essais que, dans un pays à endémie paludéenne de gravité moyenne, les malades inoculés pour la première fois avec une souche de passage de Plasmodium vivax *ne prennent l'infection que dans 53,3 % des cas. A la suite d'inoculations répétées, le pourcentage des inoculations positives* (A + P +) *est réduit à 0 à la suite d'une immunité acquise progressive ; 28 % des cas tout à fait résistants à l'infection* (A o P o), *et 18,6 %* (A o P +) *qui ne présentent, à l'occasion d'une première inoculation, qu'un parasitisme temporaire suivi de guérison spontanée, confirment cette immunité acquise. Nous n'avons constaté un fléchissement temporaire de cette immunité contre une même souche de parasite que dans 2 % des cas.*

CONTROLE DE L'IMMUNITÉ AU « PLASMODIUM VIVAX »

Les malades résistant à une inoculation d'épreuve de sang virulent de tierce bénigne, soit spontanément, soit à la suite d'une ou plusieurs inoculations de tierce bénigne, ont été soumis à deux épreuves de contrôle : d'une part, *à la transfusion de sang virulent de tierce bénigne* de la même souche de *Plasmodium vivax,* d'autre part, à l'inoculation d'une nouvelle souche de *paludisme spontané,* dû au même type de parasite.

TRANSFUSIONS

Dans les essais de transfusion, nous voulions, d'une part, réaliser le traitement de nos paralytiques qui n'avaient pas bénéficié d'une réaction fébrile à la suite des simples inoculations antérieures; nous comptions, d'autre part, sur une réaction de choc protéinique, assez recherchée dans le traitement de la paralysie générale. Nous avons commencé par établir le groupe sérologique

de nos malades (donneurs et réceptifs) en choisissant comme donneurs les malades *au sang fortement parasité en accès ou sans fièvre*. Trente-deux malades ayant résisté à une ou plusieurs inoculations antérieures ont subi la transfusion en même temps que six nouveaux malades. On inoculait très lentement, dans la veine des malades résistants, 65 à 220 centimètres cubes de sang très parasité citraté (1 %). Un autre groupe de quatre malades témoins recevaient du sang normal dans les mêmes conditions. Les malades inoculés étaient maintenus en observation directe : le contrôle de la température et du sang était fait assez fréquemment pendant les cinq premières heures après l'injection et journellement pendant la durée correspondant à l'incubation.

Nous avons été frappés, dès le début, par le pourcentage très élevé de phénomènes de choc constatés dans *80 % des cas après la transfusion*. Des transfusions faites avec du sang normal chez des paralytiques avec ou sans antécédents malariques expérimentaux ont provoqué des symptômes semblables : rachialgie, courbature, démangeaisons, sensation de lassitude, température de 38° à 41°, frissons violents. Ces phénomènes, qui commencent d'habitude de trente minutes à quatre-vingt-dix minutes après l'inoculation et atteignent le maximum au bout de trois à quatre heures, sont accompagnés de céphalalgies, de vomissements bilieux et parfois de diarrhée; chez les femmes, nous avons constaté parfois des métrorragies.

Les résultats de ces transfusions sont transposés dans le tableau IV.

TABLEAU IV

	Résultats de la transfusion de sang virulent de tierce bénigne :					
(Nombre total des malades : 44)	A+P+	%	AoP+	%	AoPo	%
Situations malariques antérieures :						
7 A+P+ à deux inoculations consécutives (tierce)	0		1	14.2	6	85,8
23 AoPo à une ou plusieurs inoculations (tierce)			3	13	20	87
1 A+P+ quarte			1			
1 A+P+ tierce maligne			1			
6 nouveaux malades	4	66			2	33,3
6 paralytiques avec transfusion de sang normal	Phénomènes de choc.					

Il résulte des chiffres du tableau IV que les six témoins — malades sans antécédents malariques — inoculés avec du sang

virulent de la même souche de *Plasmodium vivax* se sont comportés de la manière suivante; deux malades (33,33 %) nous ont reproduit le phénomène de l'*infection malarique en continuation — sans incubation* — que nous avons décrit antérieurement chez deux malades soumis à une transfusion de sang d'une fièvre quarte. Dans les deux cas, la courbe fébrile et la courbe du parasitisme du réceptif continuaient celles du donneur. *L'incubation était nulle* dans ces cas, le type fébrile revêtait dès le début l'aspect des *accès* ; l'évolution du parasitisme montrait dans les premières heures suivant la transfusion des formes de division en grand nombre, ainsi que la prédominance des formes pigmentées. Le nombre des parasites va en augmentant. L'état général des malades nous a déterminés à interrompre l'infection par le traitement.

Deux autres malades ont fait une infection normale (A + P +) après une incubation habituelle de six à quinze jours; l'un de ces malades a été traité; le second a présenté une courbe fébrile de courte durée avec disparition spontanée des parasites de la circulation générale.

Les deux derniers n'ont présenté ni fièvre ni parasites dans la circulation. La quantité variable de sang inoculé (de 75 à 220 centimètres cubes) ne paraît pas jouer un rôle déterminant dans la réalisation de l'infection : nous avons eu des résultats positifs avec 65 centimètres cubes de sang et des résultats négatifs après une transfusion de 220 centimètres cubes. Nous avons donc, parmi ces *six témoins,* 66,66 % d'infections positives. Les six paralytiques généraux témoins inoculés avec 75 à 220 centimètres cubes de sang d'homme normal ont présenté des phénomènes de choc tout à fait pareils à ceux observés chez les malades inoculés avec du sang parasité en accès ou sans fièvre.

Les transfusions faites sur les trente-deux premiers malades montrent que, malgré les accidents violents de choc, le pourcentage *des résultats négatifs après la transfusion était de 85,8 % parmi les malades à deux infections positives antérieures, et de 87 % parmi ceux ayant résisté à une ou plusieurs inoculations simples.* Le pourcentage des transfusions négatives parmi les témoins (nouveaux malades) a été de 33,3 %, inférieur donc au pourcentage des nouveaux malades après une simple inoculation.

INOCULATION D'UNE NOUVELLE SOUCHE DE « PLASMODIUM VIVAX » CHEZ LES MALADES RÉSISTANT A UN VIRUS DE PASSAGE

Huit malades qui avaient pris une première infection (A + P +) à la suite d'une inoculation de virus de passage et trente malades résistant après une ou plusieurs inoculations du même sang virulent de *Plasmodium vivax* ont été inoculés *avec du sang virulent de tierce bénigne provenant de plusieurs cas de paludisme spontané, — souche de* Plasmodium vivax *autre que celle du virus de passage*. L'inoculation de ces malades avec les nouvelles souches de *Plasmodium vivax* était faite strictement dans les mêmes conditions : les résultats obtenus sont compris dans le tableau V.

TABLEAU V

	Résultats de l'inoculation d'une nouvelle souche de Plasmodium vivax :					
(Nombre total des malades : 38)	A+P+	%	AoP+	%	AoPo	%
Virus de passage dans les antécédents :						
8 : une infection antérieure (A + P + traitée).....	2	25	2	25	4	50
30 : une dernière ou plusieurs inoculations négatives	4	11	8	22	18	67

Les données de ce tableau montrent que *la résistance acquise vis-à-vis d'une souche de passage est légèrement inférieure vis-à-vis d'une nouvelle souche appartenant au même type de parasite*. Ce sont toujours les malades à multiples inoculations qui donnent un pourcentage plus grand de résistants. Nous rapprochons ce fait expérimental des vagues épidémiques qui surviennent dans une contrée à endémie paludéenne à la suite d'une immigration de populations arrivant d'autres régions malariques. Une augmentation de la morbidité et de la mortalité est signalée dans les deux groupes de populations (aborigènes et immigrants) à la suite d'un échange de parasites appartenant le plus souvent au même type.

FIÈVRE QUARTE D'INOCULATION

Nous avons continué nos observations sur *108* paralytiques soumis en vue de traitement à une inoculation de virus de quarte (premier au quatorzième passage) dans le but d'étudier compa-

rativement la réceptivité à la fièvre quarte des malades n'ayant jamais été soumis à une inoculation de sang virulent et la réceptivité des malades résistant à une ou plusieurs inoculations de tierce bénigne. Sur ces 108 sujets, *53* recevaient pour la première fois une inoculation de sang malarique, *55* présentaient une résistance acquise vis-à-vis de la tierce bénigne à la suite d'une ou de plusieurs inoculations ou même de transfusions de tierce bénigne. L'examen journalier du sang et l'observation suivie des malades nous ont permis de fixer la durée de l'incubation de la fièvre quarte d'inoculation, qui variait dans nos cas de *vingt* à *quarante-deux* jours généralement. Dans des cas exceptionnels, cette incubation se prolongeait jusqu'à *soixante* jours. Il s'agissait des cas ayant en quelque sorte une résistance vis-à-vis de la quarte. Ce sont ces cas qui présentaient à peine un soupçon de fièvre avec un parasitisme temporaire assez discret.

Première inoculation de fièvre quarte

Les résultats des inoculations faites dans les mêmes conditions que pour la tierce bénigne sont exposés dans le tableau VI.

TABLEAU VI

		Résultats de la première inoculation de fièvre quarte :					
Nombre total des malades : 108)		A+P+	%	AoP+	%	AoPo	%
Situation malarique expérimentale antérieure :							
Nouveaux malades.....	47	29	61,3	7	15	11	24
Une ou plusieurs inoculations antérieures de tierce bénigne, malades résistant à ce virus.....	49	32	65,3	3	6	14	29
En incubation	6						
Partis ou morts....	6						

Ces données nous montrent que les paralytiques n'ayant pas eu d'inoculations antérieures de paludisme se comportent vis-à-vis d'une inoculation de fièvre quarte de la même manière que les malades ayant eu une ou plusieurs inoculations de tierce bénigne. Comme plus de 95 % des malades de ce dernier groupe étaient résistants à la tierce bénigne, il résulte qu'il n'y a pas *d'immunité croisée entre la fièvre tierce et la fièvre quarte. Le pourcentage*

des malades n'ayant pas pris l'infection de quarte est approximativement le même dans les deux groupes de malades et de beaucoup inférieur à celui de la fièvre tierce.

Deuxième inoculation de fièvre quarte

Dix-huit malades ayant eu une première inoculation positive de fièvre quarte ont été réinoculés, *après un traitement*, trois à neuf mois plus tard, avec la même souche de fièvre quarte. Sur ces 18 paralytiques, 8 (44,4 %) ont pris l'infection dans les délais normaux d'une incubation ; 3 malades (16,6 %) n'ont eu qu'un parasitisme sans fièvre ; *39 % n'ont pas pris l'infection* (A o P o).

TABLEAU VII

	Résultats de la seconde inoculation de fièvre quarte :					
(Nombre total des malades : 18)	A+P+	%	AoP+	%	AoPo	%
Situation malarique antérieure (fièvre quarte) :						
A+P+, 18 traités.....	8	44,4	3	16,6	7	39

Six sur les huit malades ayant pris une seconde infection de fièvre quarte ont été soumis à un traitement intensif. Tous ces malades n'ont pas fait de récidive dans les dix mois suivant l'inoculation.

Les malades ne présentant qu'un parasitisme discret sans fièvre, ainsi qu'un malade ayant pris l'infection se sont débarrassés de leur infection spontanément. *En général, on constate une augmentation de la résistance lors d'une seconde inoculation de la même souche de parasite.*

Troisième inoculation de fièvre quarte

Nous constatons une tendance très marquée vers l'immunité à l'occasion d'une *troisième inoculation de fièvre quarte, pratiquée sur quatre malades* ayant passé par deux inoculations positives de quarte, et qui avaient subi un traitement intensif après les deux infections. Sur ces quatre malades, un seul a présenté un parasitisme discret sans fièvre (A o P +) ; les trois autres malades n'ont pas pris l'infection.

TABLEAU VIII

	Résultats de la troisième inoculation de fièvre quarte :		
(Nombre total des malades : 4) Antécédents : 2 infections positives traitées, quarte	A+P+	AoP+	AoPo
	0	1	3

Il résulte de nos observations sur 108 paralytiques inoculés avec du sang virulent de fièvre quarte qu'il existe une immunité acquise moins accentuée dans la fièvre quarte que dans la tierce bénigne, et qu'il n'y a pas d'immunité croisée entre la fièvre quarte et la fièvre tierce.

TRANSFUSION DE SANG VIRULENT DE QUARTE

Nous nous sommes servis de cette méthode d'inoculation chez les paralytiques n'ayant pas bénéficié de la malariathérapie à cause de leur résistance à la tierce bénigne ou à la fièvre quarte inoculées dans les conditions habituelles.

Nous avons donc procédé de la même manière que pour les transfusions de tierce bénigne.

TABLEAU IX

	Résultats de la transfusion de sang virulent de quarte :				
(Nombre total des malades : 11)	A+P+	%	AoP+	AoPo	%
4 nouveaux malades	2		1	1	
7 résistants ou rendus résistants à une ou plusieurs inoculations de tierce bénigne	5	71.4		2	28.6

Sur quatre malades nouveaux soumis à une transfusion de quarte, deux ont continué l'infection du donneur sans période d'incubation (A + P +); un malade n'a présenté qu'un parasitisme de la circulation générale sans fièvre (A o P +); le quatrième n'a pas pris l'infection (A o P o). Les résultats de ce premier groupe de malades nous montrent que *la quantité de virus malarique* joue un rôle assez réduit. Le pourcentage de porteurs de parasites de 75 % à la suite d'une transfusion de sang très parasité n'est pas plus grand qu'après une simple inoculation de 4 centimètres cubes sous la peau et dans les muscles.

Un second groupe de sept malades ayant eu des inoculations antérieures multiples de tierce bénigne et quelques-uns même une

transfusion de sang virulent de tierce bénigne se sont comportés tout à fait de la même manière à la suite d'une transfusion de sang virulent très parasité de fièvre quarte : *cinq malades ont continué l'évolution de la maladie du donneur* (A + P +), *les deux autres n'ont pas pris l'infection.* Un de ces derniers malades (n° 54) avait eu auparavant quatre inoculations de tierce bénigne et une inoculation de quarte négatives, une inoculation de Laverania positive. Traité après cette dernière infection, on l'a soumis à sa demande à une *transfusion de fièvre quarte.* Le malade a présenté une forte réaction de choc, qui a duré cinq heures, avec 40° de température, frissons, vomissements bilieux, courbature et asthénie très prononcée, etc. Le contrôle fait pendant les douze mois ayant suivi la transfusion a été constamment négatif. *Ce malade a une immunité absolue contre la fièvre tierce et la fièvre quarte* (?).

Ces données confirment une fois de plus le manque d'immunité croisée entre la tierce bénigne et la fièvre quarte.

La réaction violente de choc protéinique à la suite de la transfusion constitue pour nous la meilleure méthode de contrôler le parasitisme latent.

Dans les transfusions de fièvre quarte, nous avons pu mettre en évidence le fait important de la continuation de l'évolution des différentes formes schizogoniques du sang du donneur dans la circulation du réceptif.

INFECTION ARTIFICIELLE DE LAVERANIA

Cette troisième série d'observations comporte un groupe de *trente paralytiques, dont quinze résistant à la tierce bénigne, ou à la fièvre quarte, ou aux deux types du parasite en même temps.* Tous ces malades ont reçu 4 centimètres cubes de sang virulent d'un premier passage de *tropica,* en même temps que *cinq paralytiques* n'ayant pas eu des inoculations antérieures de sang virulent.

TABLEAU X

(Nombre total des malades : 30)		A+P+	%	AoP+	AoPo	%
Nouveaux inoculés	5	4	80		1	20
Inoculations antérieures répétées tierce bénigne et quarte — malades résistants	25	18	80		7	20

Parmi les malades résistant aux deux autres espèces de parasites, 78 % ont fait une *infection de tropica* après une incubation de cinq à vingt-cinq jours. Le pourcentage d'inoculations positives parmi les cinq nouveaux malades a été de 80 %.

Nous n'avons donc pas constaté de différence sensible entre la réceptivité des témoins et celle des individus présentant une résistance parfois très prononcée vis-à-vis de la tierce bénigne ou de la fièvre quarte.

TRANSFUSION DE SANG VIRULENT DE LAVERANIA

Deux malades résistant à une inoculation de tierce bénigne ont été soumis à une transfusion de sang virulent de *tropica* d'un premier passage. Les deux malades ont pris respectivement l'infection après une incubation de *sept* et *douze* jours.

Ces observations montrent qu'il y a un *pourcentage d'infections positives de 80 à 85 % après une inoculation de sang virulent d'estivo-automnale et qu'il n'y a pas d'immunité croisée entre la Laverania, d'une part, la tierce bénigne et la fièvre quarte, d'autre part.*

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Des observations faites sur un groupe de 518 sujets soumis à la malariathérapie montrent que :

1° Dans les pays à endémie malarique de gravité moyenne (Roumanie), le pourcentage des résultats positifs (accès et fièvre) à la suite d'une première inoculation de sang virulent est de : 53,3 % pour la tierce bénigne, 61,3 % pour la fièvre quarte, 80 % pour la Laverania.

2° *Un pourcentage de* 18,6 % pour la tierce bénigne, de 15 % pour la fièvre quarte, de 18 % pour la Laverania, *présente un parasitisme temporaire sans accès.*

Plus de 95 % de ces porteurs de tierce bénigne se débarrassent des parasites spontanément, sans aucun traitement. Ce pourcentage est très réduit pour la quarte (30 à 40 %).

3° *A la suite d'inoculations répétées de sang virulent de tierce bénigne de passage, on est arrivé à conférer une immunité contre la même souche de* Plasmodium vivax *dans 100 des cas.* Cette immunité résiste même à une transfusion de 65 à 220 centimètres cubes de sang virulent de la même souche de passage de *Plasmo-*

dium vivax. 67 % seulement de ces malades résistent (A o P o) à une inoculation d'épreuve d'une autre souche de *Plasmodium vivax* (paludisme spontané sans passage) et 22 % devenus porteurs (A o P +) se débarrassent spontanément de leurs parasites.

4° *Des inoculations répétées de sang virulent de fièvre quarte après traitement confèrent également une résistance dans plus de 75 des cas.*

5° *Il n'y a pas d'immunité croisée entre les trois types de parasites.*

6° A la suite de ces résultats, il est difficile de soutenir encore l'unicité du parasite.

BIBLIOGRAPHIE

Bass (C.-C.) : « Studies on Malaria Control. The Frequency of Malaria Infection without Recognised Symptoms, compared with the Frequency of Rec. Attacks in an Area of Great Prevalency. Some Observations indicating the Effective Immunity against Malaria. Parasite Infection does not occur. » (*Southern Med. Journ.*, août 1915, vol. 12, n° 8.)

Bourdelles (L.), Liégeois (M.) et Chabrelie : « La séro-floculation du paludisme. » (*Arch. de Méd. et de Pharm.*, février 1930, t. XCII, n° 2.)

Christophers (S.-R.) : « The Mechanism of Immunity against Malaria in Communities living under Hyperendemic Conditions. » (*Indian Journ. of Med. Research*, vol. XII, 2 oct. 1924.)

Christophers (S.-R.) and Harvey (W.-F.) : « Malaria Research and Preventive Measures against Malaria in the Federated Malay States and in the Dutch Indies. » (*Indian Journ. of Medic. Research.*, vol. 10, pp. 759-771.)

Ciuca (M.), Ballif (L.) et Vieru (M.) : « Etudes sur l'immunité dans le paludisme. » (*Arch. Roum. de Path. expér. et de Microb.*, t. I, n° 4, déc. 1928.)

Ciuca (M.), Ballif (L.), Vieru (M.) et Stirbu (A.) : « Contrôle de l'immunité dans le paludisme par transfusion de sang virulent. » *C. R. des séances de la Soc. de Biol.*, 28 mai 1929, t. CII, p. 189.)

Clayton Lane (L.-M.-S.) : « Malaria. A Critical Review. » (*Tropical Diseases Bulletin*, 1922, p. 93.)

Dattner (Bernhard) u. Kauders (Otto) : *Klinische und experimentelle Studien zur therapeutischen Impfmalaria.* Leipzig, Fr. Deuticke, 1924.)

Duma (Jon) : « Paludismul in Chirurgie. »

Gerstmann : *Die Malariabehandlung der progressiven Paralyse.* Verlag von Julius Springer.

Gill (C.-A.) : « Epidemic or Fulminant Malaria, together with a Study of the Part played by Immunity in Malaria. » (*Indian Journ. of Med. Research*, vol. II. 1914, p. 268.)

Hermann (Otto) et Malinina (A.) : « Ueber die Dauer der Inkubation bei Malaria. » (*Arch. f. Schiffs-und Tropenhygiene*, 1928, Bd. 32.)

Jonesco (Victor-C.) : *Malaria de inoculare in Romania.* Thèse de Bucarest, 1928.

Kauders (O.) : « Immunitätsstudien bei Impfmalaria. » (*Centralbl. f. Bakter.*, I, Abt., Orig.)

Leon (H.) : *Contributions au diagnostic du paludisme latent*, thèse de Bucarest.

MARCHOUX (E.) : *Nouveau traité de Médecine et de Thérapeutique* Gilbert Carnot. Librairie Baillière, 1926.

REICHENOW (E.) : « The Immunity of Negroes towards Malaria. » (*Tropical Diss. Bulletin*, 1917, vol. XI, 1, p. 35.)

REICHENOW (E.) : *Lehrb. der Protozoenkunde*, II. Teil, Iéna, 1928, Gustav Fischer.

SCHITTENHELM (A.) u. SCHLECHT (H.) : « Ueber den Wert provokatorischer Adrenalininjektion bei latenter Malaria. » (*Münchn. Med. Wochenschr.*, 47, 19 nov. 1928.)

SCHÜFFNER (W.) : « Two Subjects from the Epidemiology of Malaria. » (*Mededeelingen Burg. Geneesk, Dienst. Ned. Indië*, 1919, Deel IX, p. 1.)

SERGENT (Ed.), PARROT (L.), DONATIEN (A.) et LESTOQUARD (F.) : « Immunité dans le paludisme. » (*Bulletin Soc. Path. Exot.*, 1926.)

WARASI (W.) : « Einige biologische Eigenschaften der Malaria Parasiten. » (*Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg.*, 1930, H. 3, S. 167.)

WETHMAR : « Blutgruppen und Impfmalaria. » (*Klin. Wochenschr.*, 8 oct., vol. 6, 41, 1947-1948.)

CONTRIBUTION AU TRAITEMENT DE LA SCARLATINE PAR LE SÉRUM DE CONVALESCENT

par

I. BALTEANO, I. ALEXA et E. ALEXA

(Travail de l'Hopital des maladies contagieuses « Izolarea », a Jassy.)

De nombreux auteurs (1) comme Roger, Hubert, Blumenthal Reiss et Jungmann, Koch, Moos, Herz, Kling et Widfeld et plus récemment Moog, Burghart, Rehder, Dekwitz, Bie, Larsen et Andersen (2), Ciuca, Graciunesco (3) et Bahov, Daniel, Bode, Mironescu et Gunsburg, Debré et Paraf, Weissenbach, Stroe, etc., ont confirmé l'action thérapeutique du sérum de convalescent, signalée pour la première fois par Weisbecker (1895) dans le traitement de la scarlatine.

Depuis, cette thérapeutique s'est introduite dans la pratique journalière, mais les résultats enregistrés ne sont pas toujours concordants : souvent l'effet du sérum est miraculeux, mais souvent aussi son action est incertaine. « Succès et insuccès se compensent à peu près sans qu'il ait été possible jusqu'ici de déterminer les raisons de la réussite ou de l'échec. » (Teissier et Duvoir.)

Il faut cependant reconnaître que l'efficacité de cette méthode dépend en premier lieu de la quantité de sérum et de la précocité de l'inoculation. Les recherches de Ciuca, Craciunesco et Bahov ont démontré que ce sont les formes hypertoxiques de la scarlatine qui bénéficient en particulier de la sérothérapie. Ces auteurs ont confirmé également les observations de Moog, Langer, Kling, Widfeld, etc., qui ont signalé dans les cas de scarlatine maligne accompagnés de complications streptococciques l'absence d'effet thérapeutique sur l'angine et les complications.

(1) Widal et Teissier : *Nouveau Traité de Médecine*, fasc. II, 1928, p. 125.
(2) *Acta Medica Scandinavica*, 1927, p. 238.
(3) *Arch. Roum. Pat. exp. et Microb.*, 1928, t. I, p. 271.

Au cours de l'année 1929, nous avons soigné dans l'hôpital « Izolare » 458 cas de scarlatine. Malgré le nombre réduit de cas par comparaison à l'année 1928, la mortalité a été deux fois plus élevée ; le pourcentage de la mortalité, qui était en 1928 de 2,29 %, s'est élevé à 5,15 % en 1929. Les multiples foyers de formes malignes de maison (virulence de foyer), qu'on a signalés au cours de cette année, expliquent la sévérité de l'épidémie.

Parmi ces 458 malades, 51 ont fait une scarlatine grave ou *hypertoxique*, accompagnée dans ce dernier cas d'exanthème livide, tachycardie et dyspnée intense, cyanose des muqueuses, délire ou somnolence complète, température 40-41°, forte oligurie; 21 cas ont présenté une scarlatine maligne avec des complications streptococciques (angine ulcéreuse ou nécrotique, accompagnée d'engorgement ganglionnaire et périganglionnaire, suivi, dans la plupart de ces cas, de phlegmon du cou ou de septicémie streptococcique, etc.).

Nos observations portent *sur ces 72 malades*, ayant reçu dès leur entrée à l'hôpital, en dehors du traitement général, des inoculations intramusculaires ou intraveineuses de sérum de convalescent récolté du trentième au quarantième jour de la maladie. La quantité de sérum inoculé variait de 20 à 200 centimètres cubes. Un seul de nos malades a présenté, neuf jours après l'inoculation de sérum, des plaques urticariennes assez étendues qui sont disparues quarante-huit heures après.

Les résultats obtenus ont été les suivants :

Chez 45 de ces 72 cas, qui ont reçu 40 à 100 centimètres cubes de sérum de convalescent dans les premières vingt-quatre à quarante-huit heures de la maladie, nous avons constaté dès le lendemain de l'inoculation un changement complet du tableau clinique: disparition du délire et de l'état de somnolence; le malade reprend contact avec son entourage; forte diminution de la dyspnée et de la tachycardie; chute de la température, l'érythème, livide avant l'inoculation, reprend la teinte écarlate; nous n'avons constaté la disparition immédiate que dans des cas très rares. Nous assistons enfin à une véritable résurrection du malade.

Dans 27 cas amenés à l'hôpital trois à cinq jours après le début de la maladie, l'inoculation de sérum était suivie d'une amélioration sensible de la symptomatologie clinique : les phénomènes toxiques disparaissaient progressivement au cours des jours suivants; la température ne revenait à la normale qu'après quatre à cinq jours de traitement sérique. C'est dans ces cas qu'il est

plus difficile de préciser ce qui revient à l'action thérapeutique du sérum et ce qui revient à l'évolution régulière de la maladie.

Dans 21 cas, les phénomènes toxiques diminuaient à la suite de la sérothérapie; ce traitement, cependant, ne prévenait guère l'apparition des complications streptococciques.

Ceci nous a déterminés à continuer le traitement avec du sérum antistreptococcique polyvalent. Dans 9 de ces cas, les complications streptococciques ont suivi leur évolution en provoquant la mort dix à trente-cinq jours plus tard. Il y a donc un pourcentage de 41,3 % de mortalité tardive par des complications streptococciques.

Huit cas arrivés à l'hôpital quatre à sept jours après le début de la maladie n'ont pas bénéficié du traitement par le sérum de convalescent : 2 cas de mort dans les douze premières heures de leur entrée à l'hôpital; dans les 6 autres cas, la mort survenait deux à sept jours plus tard avec septicémie streptococcique.

En résumé, il résulte de nos recherches que, parmi les 72 cas hypertoxiques traités avec du sérum de convalescent, il y en a 17 qui ont succombé (23 %). Ce pourcentage est assez réduit si l'on compte que la mortalité parmi les cas hypertoxiques est de 90 % à 100 %.

Sur les 17 cas de mort, 8 appartenant au groupe de 51 cas hypertoxiques ont succombé dans les premiers six à sept jours après le début de la maladie; dans les 9 autres cas appartenant au groupe de 21 cas de scarlatine maligne compliquée, la mort survenait trente-cinq jours après, à la suite des complications streptococciques qui ne sont guère plus rares chez les traités par le sérum. Nous attirons cependant l'attention sur ce fait *que la mortalité précoce est plus réduite que la mortalité tardive.*

Conclusions. — Le sérum de convalescent, administré en dose convenable au début de la maladie, constitue le traitement indispensable dans les formes hypertoxiques de la scarlatine ; son efficacité antitoxique, moins certaine au delà de soixante heures après le début de la maladie, ne met pas le malade à l'abri des complications streptococciques qui provoquent la mort dans la plupart des cas. Il n'exerce aucune action préventive à l'égard des complications streptococciques et ne modifie en rien leur évolution.

LA GLYCÉMIE CHEZ LES LAPINS INTOXIQUÉS EXPÉRIMENTALEMENT PAR LA TOXINE DIPHTÉRIQUE

par

V. NICA

(Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale et de l'Institut de Sérologie de Bucarest.)

En partant des résultats obtenus par René Pierrot sur la glycémie dans la diphtérie (1927), nous nous sommes proposé d'étudier expérimentalement chez le lapin l'influence de la toxine diphtérique sur la glycémie.

Nos recherches portent sur deux lots de lapins. Le premier lot de huit lapins recevait par voie sous-cutanée de 11 à 12.5 doses L + de toxine diphtérique en trois injections faites à quarante-huit heures d'intervalle; deux autres lapins servaient de témoins.

Les animaux inoculés, ainsi que les témoins, étaient régulièrement pesés avant et au cours de l'expérience. Le régime alimentaire était composé d'orge et d'eau.

On pratiquait le dosage de la glycémie d'après la méthode Fontès et Thivolle avant et après chaque injection. La prise de sang était faite toujours à jeun, par ponction intracardiaque.

Les résultats obtenus sont ceux consignés dans le tableau I.

Le deuxième lot de dix lapins, dont le poids variait de 1200 à 2000 grammes, était soumis au même régime alimentaire. Ces lapins ne recevaient qu'une injection de 2 doses L + de toxine diphtérique.

Nous avons pratiqué le dosage de la glycémie avant l'injection et pendant douze jours consécutifs.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant (n° 2).

En résumé, il résulte que, chez 50 % des lapins qui ont reçu

TABLEAU 1

Numéro du lapin	Taux normal de la glycémie	Première inoculation de toxine	Glycémie	Inoculé	Glycémie	Inoculé	Glycémie	La glycémie pendant la période agonique
		30/VIII	31/VIII	1/IX	2/IX	3/IX		
4859	0,74-0,78	0,5 dose L +	0,70	5 doses L +	1,07	6 doses L +	0,64	0,28
2117	0,86-0,83	1 — L +	0,96	2 — L +	0,75	8 — L +	0,45	Mort
2982	0,71-1,02	Témoin	1,05	4 L +	0,95	8 L +	1,07	0,81-0,64
3930	0,73-1 »	1 1/2 d. L +	0,75	4 L +	1,21	7 — L +	0,74	Mort
2182	0,73-0,99	3/4 d. L +	1,15	3 — L +	1,03	9 — L +	1,28	Mort
		29/VIII	30/VIII	30/VIII		1/IX		
3960	0,82-0,97	10 doses L +	1,10	1 1/2 d. L +	1,21	3 doses L +	1,39	Inoculés b. d. l. m., la glycémie 1,52, mort
Témoins :								
3967	0,68-0,72	»	0,73	»	0,80	»	0,94	En vie
3926	0,68-0,70	»	0,68	»	0,85	»	0,87	En vie

TABLEAU 2

Numéro du lapin	Glycémie normale	Inoculation de toxine (12 septembre)	Glycémie (13 septembre)	15 septembre	Glycémie (17 septembre)	
3319	1,13-1,17	2 doses L +	1,23	1,09	1,47	Mort, 19 sept., 21 sept., 23 sept.
4479	1 »-1,21	2 — L +	1.16	0,99	0,98	1,06 1,22 1,35 Mort.
4408	1,03-1,13	2 — L +	1.07	0,88	1,27	1,40 Mort, 21 sept.
4478	1,08-1,09	2 — L +	0,93	1,62	Mort, 15 sept.	
4293	0,96	2 — L +	1 »	1,14	1,11	1,87 Mort, 19 sept.
4468	0,87-1,08	2 — L +	1.08	0,83	1,11	2,53 Mort.
4481	0,74-0,77	2 — L +	0,61	1,15	0,66	1,37 4,43 Mort, 15 sept.
4460	0,96-1,19	2 — L +	0,91	0,72	Mort, 16 sept.	
Témoins :						
4414	0,81-1,10	»	1,04	0,85	1,04	1,14 0,94 0,90
4952	1,04-1,23	»	1,36	0,50	1,13	1,03 1,29 ? 1,10

des doses répétées et croissantes de toxine diphtérique, on trouve une hypoglycémie, tandis que chez les lapins qui ont reçu 2 doses L + en une seule injection, on constate une glycémie normale pendant les douze jours qui ont suivi et une hyperglycémie pendant la période agonique.

Les résultats discordants obtenus nous ont obligé à de nouvelles expériences qui vont être publiées ultérieurement.

MÉTHODE DE PRÉPARATION DU SUC EMBRYONNAIRE A PARTIR D'UNE PULPE DESSÉCHÉE FACILEMENT CONSERVABLE ET SON APPLICATION AUX CULTURES DES TISSUS

(Note préliminaire)

par

E.-C. CRACIUN

(Travail de l'Institut de Sérologie Dr J. Cantacuzène, de Bucarest.)

La préparation du suc embryonnaire peut présenter parfois des difficultés appréciables, soit par la préparation elle-même, soit par l'absence d'un matériel initial convenable. En effet, il est souvent difficile de se procurer des embryons de l'âge voulu et, d'autre part, la préparation de l'extrait embryonnaire demande un certain temps et toute une série d'opérations plus ou moins compliquées.

Pour ces raisons, il nous a paru désirable de remplacer la pulpe embryonnaire fraîche par une pulpe embryonnaire desséchée et conservée aseptiquement. On peut réaliser, d'après ce principe, des préparations plus ou moins différentes. Après plusieurs essais, la technique suivante nous a paru s'adapter le mieux au but proposé.

La préparation est faite à partir d'embryons de poules de sept à neuf jours, qui sont réduits en pulpe à l'aide d'un broyeur de petites dimensions, comme à l'ordinaire. Seulement les gouttes qui ressortent du broyeur sont reçues directement dans des fioles à col très large de 3 ou 5 centimètres cubes. Ces fioles sont placées immédiatement dans un excicateur sur du chlorure de calcium, ou sur du pentoxyde de phosphore, dans le vide. On doit réaliser une dessiccation assez rapide qui soit complète au bout de trois à six heures au maximum (pour Ca Cl^2). Les fioles sont scellées

et on les garde à la glacière pendant le temps voulu. Une asepsie parfaite est indispensable.

Pour des raisons théoriques, il paraît préférable de remplir l'excicateur, une fois l'opération terminée, non pas avec de l'air ordinaire, mais avec de l'azote, celui-ci jouant le rôle de corps inerte. On peut se procurer l'azote soit à partir de l'azote industriel, soit à partir de l'air atmosphérique dont on a enlevé l'oxygène à l'aide d'une solution d'acide pyrogallique et de potasse caustique. L'absorption d'oxygène se fait dans un récipient en verre d'où l'azote est chassé par siphonnage, desséché sur $Ca\ Cl_2$ ou sur $P_2\ O_5$.

Il est très facile de préparer un extrait aqueux de cette pulpe desséchée. On ouvre la pointe de la fiole, on y ajoute la quantité voulue d'une solution saline (de préférence du Tyrode); on râcle le dépôt avec la pointe d'une aiguille en platine, on ferme à nouveau la fiole et on laisse macérer son contenu pendant une demi-heure, tout en l'agitant de temps à autre. Après cet intervalle, on centrifuge la fiole la pointe en bas pendant quelques minutes à une vitesse moyenne de 2000 tours. On ouvre maintenant la fiole à sa base, ce qui est facilement fait si on en chauffe latéralement le fond; par la petite ouverture qui se forme sous la pression de l'air dilaté, on introduit la partie capillaire très effilée et légèrement coudée d'une pipette Pasteur. Pour chaque série de fioles, il faut en sacrifier une au moins pour le contrôle bactériologique préalable.

Les avantages de cette méthode paraissent être appréciables. En dehors de sa rapidité, cette méthode nous permet d'éviter un des grands écueils de la préparation ordinaire du milieu de Carrel. Comme Albert Fischer le remarque, il est parfois très difficile de se débarrasser complètement des cellules vivantes lorsqu'on prépare du suc embryonnaire à partir de tissus frais. Même si on emporte, dans le cas de la nouvelle méthode sus-indiquée, quelques débris de tissus, ces derniers sont complètement inanimés et ne peuvent aucunement troubler la pureté de la colonie en observation.

Deuxièmement, il est certainement très difficile de se procurer des œufs frais et fertiles ou des embryons de souris à n'importe quelle période de l'année. Ce désavantage est surtout sensible lorsqu'on n'a pas de moyens illimités à sa disposition et lorsqu'on se trouve dans des pays où l'hiver est très rigoureux.

Au point de vue des résultats, la préparation d'après la méthode sus-indiquée nous a donné des résultats tout à fait favorables.

Nous avons employé comme tissus témoins des cultures de cœur d'embryons de poulets de dix-sept jours. Tandis que les cultures faites en plasma pur (dilué de Tyrode) n'ont pas montré de croissance appréciable que dans environ 10 % des cultures et seulement pendant les deux ou trois premiers jours, l'addition d'un extrait de pulpe desséchée rendait possible, non seulement une prolifération très abondante et très irrégulière, mais également une longue série de repiquages.

La pulpe desséchée paraît donc pouvoir conserver ses propriétés caractéristiques pendant un long intervalle de temps (qui n'a pas dépassé dans nos expériences deux à huit semaines). L'extrait ainsi préparé montre un pH qui ne diffère pas notablement du pH d'un extrait embryonnaire préparé avec des tissus frais; seulement, une fois la solution faite, il se conserve moins longtemps, ses propriétés actives disparaissent plus rapidement et son activité paraît légèrement amoindrie par rapport à l'extrait de tissus embryonnaires frais.

En résumé, cette méthode paraît pouvoir nous assurer une facile conservation de matériel riche en tréphones que l'on peut employer selon le besoin, sans aucune perte de temps notable. De ce fait, on peut avoir une provision suffisante de ces substances, dont Carrel a démontré l'importance primordiale pour la prolifération des cellules *in vitro*.

L'étude de ce stock-extrait embryonnaire est poursuivie au point de vue de ses différentes propriétés et fera l'objet d'une publication ultérieure.

Le Gérant : J. Caroujat. NIORT. — IMP. TH. MARTIN.